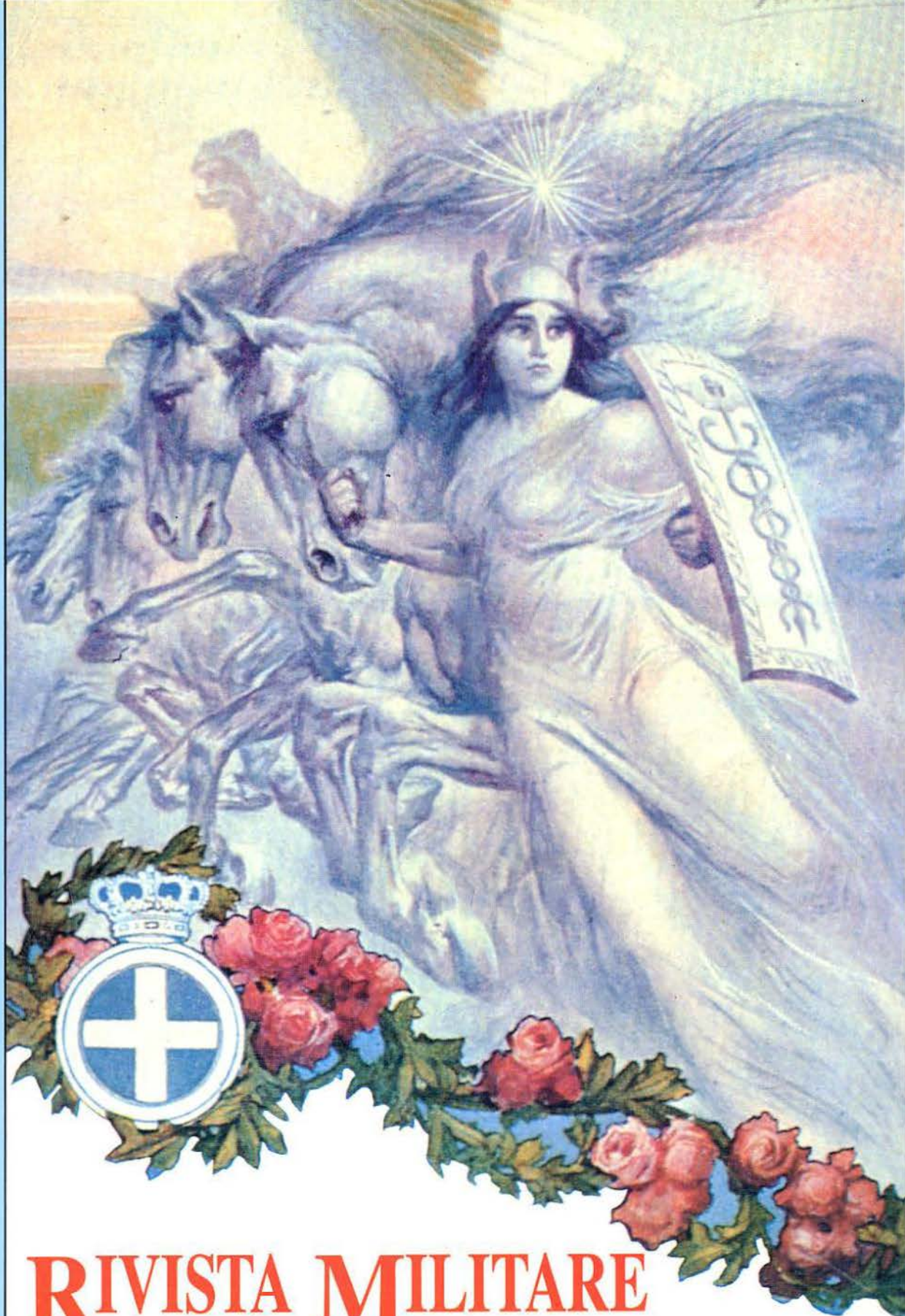




IMMOTA FIDES

**Comando
del Corpo
Veterinario
dell'Esercito**



Numero

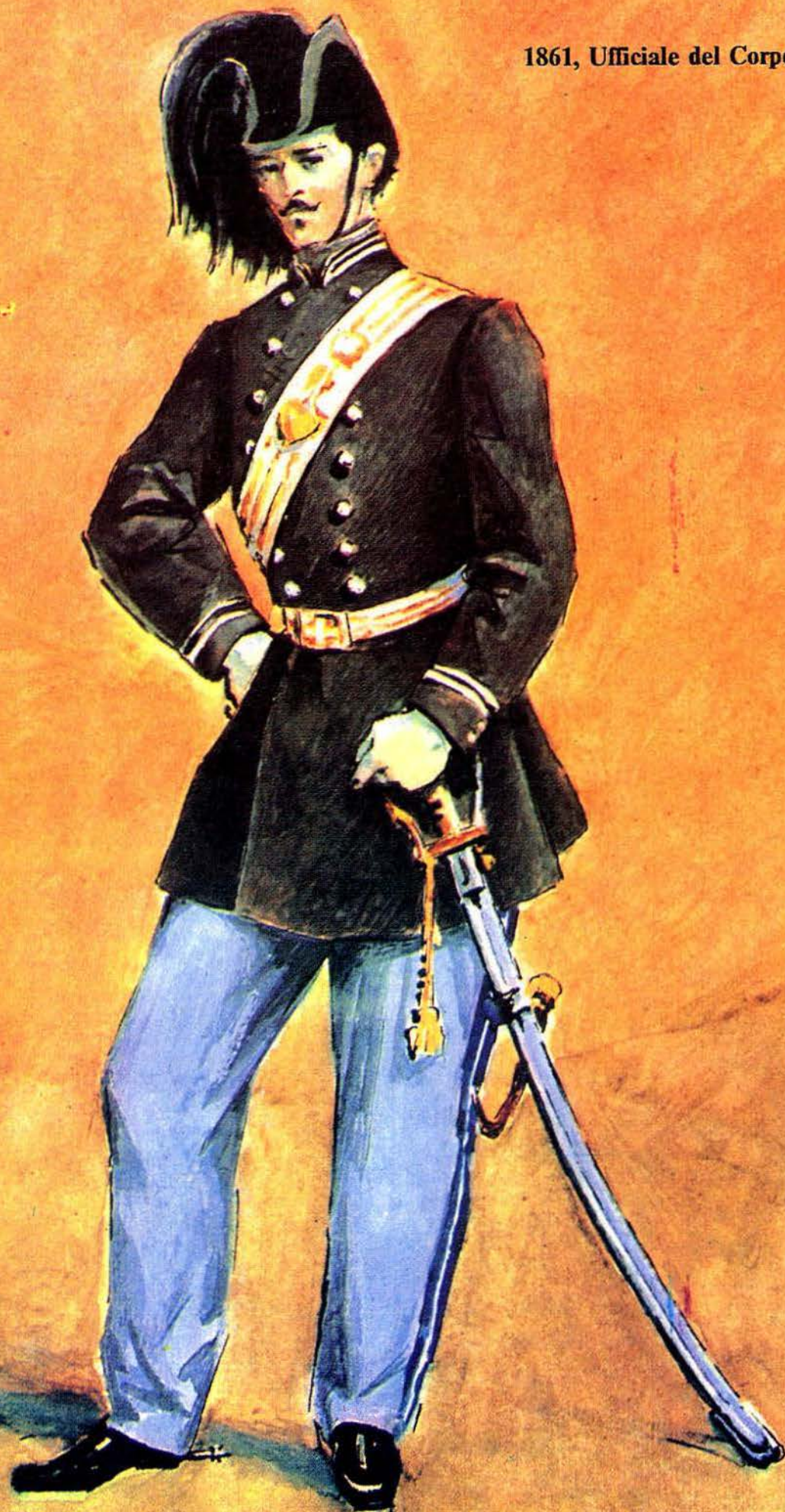
4

Supplemento alla

**RIVISTA
MILITARE**

RIVISTA MILITARE DI MEDICINA VETERINARIA

1861, Ufficiale del Corpo Veterinario.





QUADRIMESTRALE

Supplemento al n° 2/1992
della Rivista Militare

Direttore Responsabile
Gen. B. Pier Giorgio Franzosi

Direttore Editoriale
Magg. Gen. Domenico Nesci

Redattore Capo
Cap. Massimiliano Angelini

Comitato di Redazione

R. Archilei, L. Bellani, L. Bignozzi, G. Caputo, G. Catellani, A. Corrias, L. D'Esposito, G. Gentile, A. Gobetto, G. B. Graglia, F. Guarda, D. Minori, F. Monti, G. Morei, A. Rogheto, L. Rosso, A. Sala, A. Silvestri, A. Triani, V. Vittucci.

Comitato Scientifico

E. Arru, T. Balbo, B. Baldelli, G. Ballarini, G. Cardini, S. Carli, L. Casarosa, O. Catarsini, A. Ciorba, A. Corrado, C. Girardi, A. Leopold, E. Maglione, S. Maletto, L. Masetti, C. Montesissa, C. Peruccio, G. Pezzoli, A. Pilloni, G. Pompa, L. Pozzi, A. Romagnoli, F. Scazzola, F. Trenti, F. Valfrè.

Fotolito: Studio Lodoli, Roma

INDICE

Numero **4**

La Rivista Militare di Medicina Veterinaria ha lo scopo di consentire agli Ufficiali un costante aggiornamento tecnico-professionale fornendo loro la possibilità di divulgare le esperienze scientifiche maturate in ambito militare. Nel quadro della collaborazione Esercito-Paese la Rivista si prefigge l'obiettivo di facilitare lo scambio di conoscenze e di esperienze fra il mondo accademico e la veterinaria militare.

- 2 Vaccini e vaccinazioni:**
Duecento anni di storia.
(Ezio Lodetti, Ivano Massirio, Marco Ongaro)

- 16 Esame ecografico delle strutture palmarie della regione metacarpale del cavallo: tecnica e risultati.**
(Bruno Peirone, Anna M. Pilone, Luigi Pozzi, Stefano Nardi)

- 25 Impiego della termografia a contatto nella valutazione delle lesioni tendinee del cavallo sportivo.**
(Piero Puntoni, Mario Modenato, Silvano Tamagna, Luigi Mellano, Simone Fallaci, Fernando Fabiani)

- 37 Legislazione**

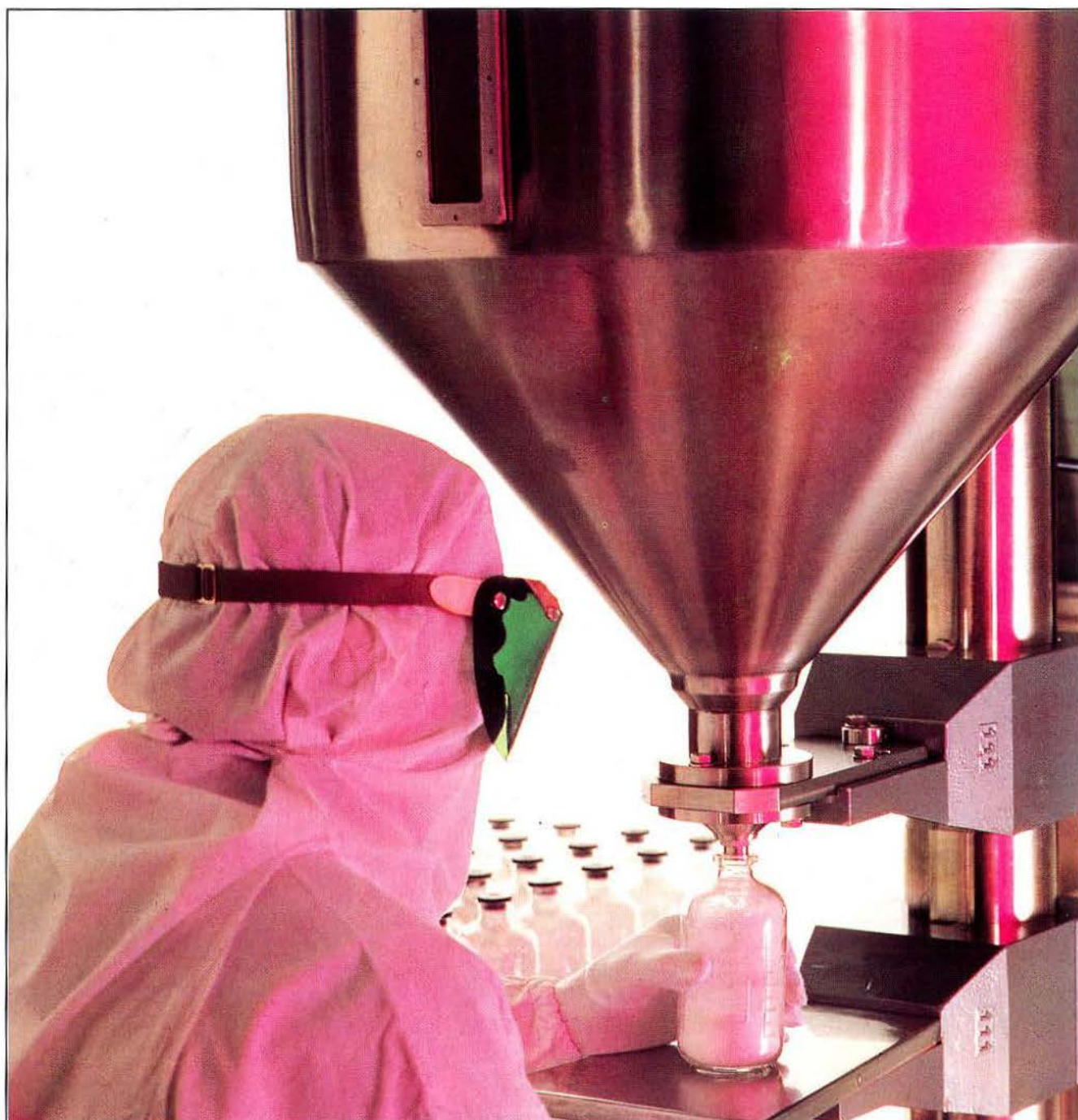
- 40 Vita di Corpo: ieri e oggi**



La pubblicazione dei lavori è subordinata alla valutazione del Comitato di Redazione ed i testi e il materiale illustrativo inviati non verranno restituiti. Le opinioni espresse dagli Autori non impegnano la responsabilità della Rivista. I lavori inviati per la pubblicazione dovranno essere inediti; le eventuali tabelle, figure e grafici dovranno essere numerati e corredati da una sintetica didascalia; la bibliografia dovrà essere redatta correttamente. Ciascun articolo, inoltre, dovrà essere accompagnato da un breve riassunto in italiano e in inglese, da una foto a colori formato tessera e da un curriculum vitae dell'Autore. I lavori, in duplice copia, nella stesura definitiva, corretti e firmati dall'Autore, dovranno essere indirizzati a: Comando del Corpo Veterinario dell'Esercito, Piazza Maresciallo Giardino, 49 - 00195 Roma.

VACCINI E VACCINAZIONI: DUECENTO ANNI DI STORIA

E. Lodetti (*), I. Massirio (**), M. Ongaro (***)



RIASSUNTO

Viene descritta l'evoluzione dei vaccini veterinari dall'origine ai nostri giorni. Particolare rilievo viene dato ai procedimenti innovativi oggi disponibili per la produzione di vaccini di nuova generazione. I rapidi progressi fatti in tale settore sono frutto delle conoscenze a livello molecolare degli agenti infettanti in unione alle metodiche derivate dalla ingegneria genetica.

Viene fatto accenno anche ai vaccini antiparassitari, agli adiuvanti ed agli effetti indesiderabili dei vaccini.

SUMMARY

Evolution in vaccines and vaccinations is described, with regard to new molecular biology techniques.

Adjuvant and side-effects of vaccines are investigated. Knowledge on vaccines against parasitic agents are reported.

INTRODUZIONE

Le aspettative di vita dell'uomo e lo stato sanitario degli animali domestici hanno subito un deciso miglioramento nel corso degli ultimi 100 anni in seguito a tre conquiste fondamentali nel settore biomedico: la prima riguarda l'identificazione degli agenti patogeni e l'importanza dell'igiene nella prevenzione delle infezioni, la seconda lo sviluppo dei vaccini e delle vaccinazioni, la terza la scoperta degli antibiotici.

Luigi Pasteur può essere considerato a tutti gli effetti il pioniere di due di queste tre grandi conquiste nel campo scientifico.

I primi vaccini veterinari sono stati messi a punto, più di un secolo fa, dallo stesso Pasteur che scelse i termini di vaccino e di vaccinazione in omaggio alle ricerche di Jenner (1798) sul virus vaccinia (vaiolo umano).

Luigi Pasteur, con la collaborazione dei veterinari delle Scuole Veterinarie di Lione, Alfort e Tolosa, ha messo a punto vaccini contro il colera aviario (1880), la pleuropolmonite dei bovini (1882), il carbonchio ematico (1881), il mal rosso dei suini (1883) e la rabbia (1885). Pasteur si basava sul principio che gli agenti patogeni potevano essere trasformati in vaccini mediante attenuazione della loro viru-

lenza attraverso manipolazioni di laboratorio.

All'inglese Wright, all'americano Smith ed ai tedeschi Pfeiffer e Kolle (1896) si deve il merito di aver iniziato le ricerche sulla inattivazione chimica dei microrganismi interi, metodica questa che ha portato all'allestimento dei primi vaccini inattivati.

A Roux e Yersin (1888) si deve la scoperta della patogenicità delle tossine extracellulari (esotossine) prodotte dai batteri.

L'inattivazione chimica della esotossina tetanica e difterica (anatossina) portarono alla preparazione di vaccini efficaci (Glenny e Hopkins 1923 - Ramon e Zoller 1927). La coltura del virus dell'influenza e di varie rickettsiae in uova embrionate di pollo ha permesso di mettere a punto nuovi vaccini inattivati (Cox 1938; Horsfall et al. 1941). Un ulteriore sviluppo nella preparazione di vaccini è rappresentato dalla selezione dei microrganismi mutanti, che hanno perduto in parte o nella totalità la loro virulenza mediante passaggi seriali su animali da laboratorio o per passaggi ciechi in terreni culturali particolari. Un esempio di questo metodo costituito dal bacillo Calmette Guérin (BCG) (Calmette 1927), un micobatterio di origine bovina attenuato con successivi passaggi su terreno a base di bile bovina, che fu utilizzato come vaccino. In Olanda nel 1952, Frenkel mise a punto il metodo per preparare

il primo vaccino a virus inattivato contro l'afte epizootica, preparato con virus coltivato su epitelio linguale bovino mantenuto in sopravvivenza.

Il metodo di Frenkel ha costituito il punto di partenza di una nuova disciplina delle scienze veterinarie che si occupa delle tecnologie industriali per la produzione di vaccini.

Con la scoperta della propagazione dei virus in colture cellulari (Enders, Weller, e Robbins 1949) inizia l'era moderna nella storia dei vaccini antivirali. Questa nuova metodica ha apportato quattro vantaggi determinanti: la possibilità di attuare passaggi seriali dei virus in un tempo relativamente breve consentendo di ottenere più rapidamente una eventuale attenuazione; la possibilità di replicare i virus ad alto titolo consentendo la preparazione di vaccini più efficaci ed economici; la possibilità di studiare i cloni dei singoli virus; la possibilità di ridurre significativamente la presenza di proteine estranee allergeniche nei vaccini.

Molti vaccini attuali contro la malattia di Aujeszky, la PSC, l'IBR, la MD sono stati preparati partendo da mutanti fredde ottenute in colture cellulari incubate a temperature inferiori ai 37°C. Grazie a questi tipi di vaccini molte malattie virali sono state tenute sotto controllo.

Attualmente lo sviluppo di nuove tecnologie derivate dalla biologia molecolare ha portato ad una serie di innovazioni nella preparazione dei

vaccini a livello della loro concezione, preparazione ed utilizzazione.

Lo scopo di questa nota è di prendere in esame l'evoluzione dei concetti e degli approcci che hanno portato ai vaccini attuali o che a partire dalle nuove tecnologie vogliono arrivare entro breve termine a vaccini detti di nuova generazione.

VACCINI VETERINARI

I vaccini per uso veterinario destinati agli animali da reddito debbono possedere necessariamente delle caratteristiche che non sono ritenute necessarie per i vaccini allestiti per gli animali da compagnia e per l'uomo.

Queste caratteristiche si possono così sintetizzare: costo minimo accettabile della dose vaccinale; numero degli interventi vaccinali ridotti al minimo; facilità di somministrazione; innocuità totale a breve e a lungo termine; efficacia in termini di protezione, identità e purezza dell'antigene utilizzato; sterilità; rispetto delle norme per la salvaguardia dell'ambiente (vaccini vivi ricombinanti).

I controlli ufficiali del Ministero della Sanità garantiscono l'impiego di un buon presidio immunizzante. La messa a punto di un vaccino che possieda le caratteristiche richieste necessita di un notevole impegno economico, necessario per sostenere le ricerche sperimentali e per approntare i laboratori e le attrezzature per la produzione industriale. Dal punto di vista scientifico la messa a punto di vaccini costituisce una attività estremamente interessante in quanto deve tener conto dei progressi raggiunti a livello di teoria e di tecnologia riguardanti differenti discipline come la virologia, la microbiologia, la parassitologia, l'immunochimica e l'immunologia.

La protezione conferita dai vaccini nei confronti di agenti virali o batterici capace di stimolare un'immu-

nità prevalentemente umorale (afta, PSC, IBR, mal rosso, ecc.) è stata ottenuta abbastanza facilmente in ragione dell'efficacia dei vaccini disponibili.

Per certe malattie virali a carattere sistemico (LEB, leucosi aviare, retrovirus della pecora e della capra, anemia infettiva del cavallo, retrovirus felini, peste suina africana, ecc.) non si è purtroppo ancora arrivati ad una soluzione soddisfacente in materia di vaccini nonostante che le conoscenze sulle proprietà degli agenti patogeni e dei meccanismi immunitari abbiamo fatto progressi spettacolari in questi ultimi anni.

Sussistono pure notevoli difficoltà per indurre una protezione immunitaria contro malattie la cui immunità è essenzialmente locale (enteriti, mastiti bovine).

Per nuove malattie, come la malattia emorragica virale del coniglio, il cui agente eziologico non è per il momento coltivabile in vitro, la preparazione di vaccini si basa ancora sulle lavorazioni di organi animali infettati sperimentalmente.

Per quanto riguarda i vaccini antiparassitari sussistono ancora grandi difficoltà dettate soprattutto dalla complessità degli antigeni dei parassiti di fronte alla quale la risposta immunitaria dell'animale ospite è spesso nulla.

Bisogna anche sottolineare il fatto che molte malattie parassitarie che rappresentano ancora patologie di rilievo in Europa (coccidiosi aviare, distomatosi ed ipodermosi dei ruminanti) ed ancora nelle zone tropicali (trpanosomiasi) sono ben controllate da molecole antiparassitarie, che tuttavia sono indiziate di causare effetti indesiderati sulla fauna selvatica, sull'ambiente e per la presenza di residui nelle carni pericolosi per la salute dell'uomo. Proprio per questi motivi l'utilizzo di vaccini antiparassitari non dovrebbe essere accantonato a priori.

Deve comunque essere chiaro il concetto che le vaccinazioni per-

mettono di controllare efficacemente le malattie, ma non sono in grado di impedire che gli agenti patogeni possano continuare a persistere, sebbene in misura ridotta, nelle popolazioni animali.

La vaccinazione comunque deve essere considerata la prima tappa del processo di eradicazione di una malattia. Gli esempi della brucellosi, della PSC e dell'afta epizootica sono sufficientemente eloquenti.

I VACCINI VETERINARI DI NUOVA GENERAZIONE

I vaccini che oggi vengono utilizzati sono più che soddisfacenti dal punto di vista dell'efficacia pur tuttavia ben pochi di quelli disponibili, forse nessuno, possiedono tutte le caratteristiche che si dovrebbero richiedere ad un vaccino ideale e cioè: assoluta innocuità, efficacia certa con il minor numero possibile di interventi, stabilità dell'antigene, basso costo, assenza di acidi nucleici e di proteine estranee.

Nuove interessanti prospettive si sono aperte nell'ultimo decennio con l'identificazione delle proteine immunogene dei vaccini e con la manipolazione genetica dei batteri, dei virus, e dei parassiti. La biologia molecolare e l'ingegneria genetica offrono oggi la possibilità di produrre vaccini senza manipolare agenti patogeni, ma solo i loro componenti immunogeni; di produrre vaccini sicuramente innocui od agenti immunizzanti vivi attenuati in modo irreversibile.

Ci troviamo pertanto di fronte ad una nuova generazione di vaccini derivanti da tecnologie di produzione diverse ma assolutamente innovative. Alcune ricorrono a sistemi biologici (DNA ricombinate, riassortimento o delezione di geni, antiidiotipo), altre a sistemi esclusivamente chimico-fisici (sintesi di polipetidi).

La tab. 1 riporta le tecniche usate per lo sviluppo di nuovi vaccini.

ATTENUAZIONI SPECIFICHE

È noto da molti anni che i microorganismi vivi attenuati sono in grado di stimolare una risposta immunitaria molto efficace.

L'attenuazione viene ottenuta selezionando ceppi di ridotta virulenza (nel caso dei batteri, per esempio, varianti rugose o semirugose) mediante rigorosi passaggi in laboratorio o coltivandoli in condizioni che ne limitano la crescita.

I ceppi vaccinali vivi selezionati con queste tecniche tendono spesso a riacquistare la primitiva virulenza. Questo costituisce sicuramente un aspetto negativo.

VACCINI BATTERICI

Mutazioni-blocchi metabolici

Ceppi mutanti (mancata espressione della parete cellulare) di *S.dublin* e *S.gallinarum* in grado di dare origine a colonie rugose sono stati utilizzati come vaccini per prevenire la salmonella nei bovini (Smith, 1955) e nei polli (Smith, 1956). Il vaccino allestito con la *S.dublin* è risultato responsabile di reazioni infiammatorie nel punto di inoculazione e a volte di reazioni allergiche fatali. Più recentemente Wahadan et al. (1982) hanno messo a punto uno stipite di *S.typhi* nel quale è stata introdotta, con manipolazioni genetiche, una mutazione del gene *galE*, con esito nell'incapacità a fermentare ed utilizzare il galattosio.

Questo stipite mutante è in grado di vaccinare molto efficacemente la mucosa intestinale per somministrazione orale.

La immunoprotezione locale si stabilisce rapidamente, ma a seguito della scissione del lattosio (in glucosio e galattosio) questi germi vengono poi devitalizzati dall'accumolo interno di galattosio. Si è ottenuto così un vaccino vivo perfetto cioè ad autodistruzione.

BIOTECNOLOGIE PER LO SVILUPPO DI VACCINI

1. ATTENUAZIONI SPECIFICHE

VACCINI BATTERICI

A) mutazioni-blocchi metabolici

B) vaccini a base di tossoidi

VACCINI VIRALI

ricombinazioni, riassortimento di geni, delezioni

2. TECNICHE DNA RICOMBINANTI

vaccini subunitari

3. PEPTIDI SINTETICI

4. VACCINI ANTIIDOTIPO

Questa mutazione *galE* è stata introdotta con buon successo in altre salmonelle, compresa la *S.typhimurium*, ottenendo così i rispettivi vaccini vivi autodistruttivi da impiegare per via orale. Un approccio alternativo per la produzione di salmonelle attenuate dato dall'impiego di una salmonella mutante chiamata *aro-A* (Haiseth e Stocker, 1981). Questa salmonella presenta un blocco nella biosintesi dei composti aromatici (*aro*). Poiché questi composti (ac. paraaminobenzoico e ac. deidrossibenzoico) non sono presenti nei mammiferi le salmonelle *aro-A* non sono in grado di moltiplicarsi nell'ospite e pertanto perdono la loro virulenza.

La salmonella *aro-A* è risultata atte-

nuata per il topo ed ha dato soddisfacenti risultati nei bovini e nei suini dando origine ad una risposta immunitaria buona e duratura (Stocker et al., 1983).

Vaccini a base di tossoidi

Nei batteri piccole delezioni apportate all'interno dei geni responsabili della produzione di tossina possono essere utilizzate per produrre vaccini a base di tossoidi. I tossoidi sono in grado di dare una risposta immunitaria sovrapponibile a quella prodotta dalle tossine, ma offrono il vantaggio che essi perdono il sito attivo della tossicità.

Ceppi di *E.coli* enterotossici (ETEC) riconosciuti agenti responsabili di

Tab.1

diarrea, possiedono due fattori principali di virulenza: una adesina, che permette al microorganismo di aderire alla mucosa, ed una enterotossina. La enterotossina è a sua volta costituita da due tipi di tossine, una tossina stabile al calore (ST), costituita da un piccolo peptide scarsamente immunogeno, ed una tossina labile al calore (LT) altamente immunogena. La tossina LT consta di due subunità, la subunità A (attiva e responsabile dell'attività tossica, ed una sub unità B, immunogena con la funzione di legare la subunità A alle cellule epiteliali dell'intestino. Poiché la tossina non facilmente purificabile con i mezzi convenzionali e non può essere convertita in tossoide, ceppi di *E. coli* sono stati modificati con manipolazioni genetiche in modo da produrre la subunità B, ma non la subunità A della colitossina. La subunità B, prodotta sottoforma di tossoide stata usata come vaccino, che risultato in grado di conferire un'immunità protettiva verso ceppi *E. coli* che producono LT.

Parimenti clonando porzioni del gene responsabile della tossina tetanica e determinando l'intera sequenza DNA del gene, stato possibile far esprimere a *E. coli* il tossoide del tetano (Dallas et al., 1979).

Sono stati anche prodotti con manipolazioni genetiche ceppi di *E. coli* in grado di esprimere porzioni del polipeptide del tetano che conteneva il frammento C, non-tossico, ma altamente immunogeno.

Queste porzioni dei polipetidi sono risultate in grado di proteggere i topi in seguito a challenge con tossina tetanica.

VACCINI VIRALI

Ricombinazioni, riassortimento di geni, delezioni.

La ricombinazione ed il riassortimento di geni si può ottenere coinfectando contemporaneamente colture cel-

lulari con un ceppo virale virulento e con un ceppo apatogeno. Alcune forme "riassortite", derivate dalla coinfezione, risultano private dei geni patogeni senza che venga annullata la loro capacità di propagarsi e di esprimere epitopi immunodominanti. Forme virali "riassortite" con l'impiego di questa tecnica sono state ottenute con il virus dell'influenza e con i rotavirus.

Coinfectando colture cellulari con ceppo virulento umano di virus influenzale e con ceppi influenzali aviari (che replicano poco nei mammiferi) si sono ottenute forme "riassortite" contenenti la maggior parte dei geni del ceppo aviare e due geni per le proteine di superficie HA e NA del ceppo umano. Tali forme hanno conservato nell'uomo la immunogenicità del virus selvaggio, ma hanno perso la capacità di trasmettersi da un individuo all'altro (Murphy et al. 1982-1984).

Stipiti virali "riassortiti" stanno per essere messi a punto anche per il virus dell'influenza equina (Murphy et al. 1984) con buone prospettive per un impiego a scopo vaccinale.

Negli anni recenti sono stati allestiti per delezione numerosi vaccini nei confronti della malattia di Aujeszky. La maggior parte di essi è stata prodotta facendo riferimento alle conoscenze genetiche delle funzioni virali ricavate dai vaccini tradizionali od ottenute empiricamente (Van Oirschot et al. 1990)

Il fine principale di questi vaccini innovativi è stato quello di superare l'utilità dei vaccini tradizionali.

Si sono ottenuti miglioramenti in tre campi: innocuità; efficacia; presenza di un marker immunologico negativo. I nuovi vaccini sono per la maggior parte TK- e sono ottenuti eliminando dal genoma di un ceppo virulento sequenze relativamente lunghe del gene TK.

In alcuni vaccini questa è l'unica delezione genetica che rende il virus avirulento. In altri l'inattivazione del gene TK è combinata con la delezio-

ne di geni codificanti la glicoproteina gI e la glicoproteina gIII, che inducono una perdita totale della virulenza. Sia la gI che la gIII agiscono nel rilascio delle particelle virali dalle cellule infette e la gIII inoltre coinvolta nei meccanismi di assorbimento del virus alle cellule e nel conferire termostabilità al virus. L'enzima TK è apparso inoltre essenziale per la replicazione del virus della pseudorabbia (PRV) nel tessuto nervoso; ne consegue che le mutanti carenti del gene TK sono notevolmente ridotte nella virulenza.

L'efficacia di questi vaccini allestiti per ingegneria genetica è stata valutata nei suini. È stato possibile evidenziare che alcune mutanti delete sono più efficaci rispetto ai vaccini convenzionali. Tutti i vaccini ricombinanti sono apparsi in grado di proteggere i suini da severe manifestazioni cliniche e dalla morte in seguito a challenge con PRV patogeno. A causa però della variabilità delle condizioni impiegate nelle varie prove è impossibile, al momento attuale, indicare tra i vaccini ingegnerizzati quale sia il più efficace.

I fattori che sembrano influenzare la efficacia vaccinale delle mutanti delete sono l'immunogenicità del ceppo parentale di origine, il metodo impiegato per l'allestimento delle mutanti l'immunogenicità delle glicoproteine delete e infine la capacità della mutante a replicare nel suino. Un vaccino di nuova generazione contro la PRV per essere definito innocuo deve possedere le seguenti caratteristiche: mancanza di virulenza per i suinetti lattanti; non deve essere trasmissibile; deve possedere stabilità genetica dopo passaggi nel suino; non deve indurre latenza; non deve essere patogeno per gli animali recettivi.

I vaccini allestiti con mutanti delete sembrano possedere molte di queste caratteristiche. Un potenziale limite all'impiego di questi vaccini è la loro possibile ricombinazione con ceppi selvaggi, che potrebbe causare la

riformazione di nuovi stipiti virulenti. Anche se la ricombinazione può essere indotta in colture cellulari, essa appare tuttavia altamente improbabile in condizioni di campo, poiché presupporrebbe che entrambi i virus infettino la stessa cellula allo stesso momento.

Sono attualmente senza successo i tentativi di indurre questa ricombinazione in vivo, mediante inoculazione nel suino per via endonasale di una dose elevata sia di vaccino che di virus selvaggio.

La maggior parte dei vaccini allestiti per ingegneria genetica non esprime una o più proteine; quindi i suini vaccinati non esprimono risposta anticorpale nei confronti delle glicoproteine mancanti.

Un test sierologico che impiega anticorpi specifici per le glicoproteine mancanti può quindi permettere una distinzione tra animali infetti e vaccinati ed è di fondamentale importanza per il controllo e l'eradicazione della malattia in quei Paesi che impiegano strategie di vaccinazione.

Un prerequisito essenziale per l'applicazione pratica di queste reazioni è che l'infezione con lo stipite di campo induca la formazione di anticorpi nei confronti della glicoproteina non espressa nel vaccino marker.

È stato messo a punto un saggio ELISA nei confronti della gI, che impiega le cellule infette come antigene ed un anticorpo monoclonale nei confronti della gI come anticorpo indicatore.

Le reazioni sierologiche volte a distinguere tra animali infetti e vaccinati devono essere in grado di evidenziare la risposta anticorpale anche nei suini vaccinati infetti con basse dosi di PRV (poco virulenti). Questi test devono inoltre essere in

grado di rilevare gli anticorpi per periodi di tempo prolungati, preferibilmente per l'intera vita dell'animale.

Mettendo in paragone i differenti test allestiti, i dati disponibili indicano che quelli per la evidenziazione di anticorpi nei confronti della gI possono essere meglio utilizzati per differenziare i suini vaccinati da quelli infetti.

I Paesi che hanno la necessità di eradicare PRV mediante vaccinazione sistematica ed eliminazione dei suini infetti dovrebbero utilizzare un solo tipo di vaccino (cioè ad unica delezione). Il fatto di utilizzare vaccini deleti nella gI, gX o gIII non dovrebbe riguardare solo l'efficacia e l'innocuità del vaccino, ma la scelta deve

essere compiuta in base alla possibilità di utilizzare saggi sierologici specifici, che portino all'identificazione anche degli animali infetti in forma latente.

TECNICHE DNA RICOMBINANTI

Vaccini subunitari

Questa tecnologia è il risultato di studi iniziati negli anni '70, basati sul presupposto per cui determinate costituenti proteiche della superficie virale (cosidette subunità) posseggono attività immunogena specifica, ma non sono dotate di potere infettante. Dette subunità possono essere in



alcuni casi prodotte per sintesi ma più frequentemente vengono prodotte mediante l'inserimento dei loro geni codificanti nel materiale genetico di batteri o di altri virus non patogeni che sono in grado di garantire elevate produzioni di antigene.

Il vaccino contro l'epatite B (HBV) è stato messo a punto con questa metodica. Operazioni analoghe sono state sperimentate con la proteina VP1 del virus dell'afta, l'emagglutina (HA) del virus dell'influenza A, la glicoproteina del virus della rabbia e la glicoproteina dell'Herpes simplex.

In campo veterinario l'esempio meglio studiato di vaccino DNAr da *E. coli* è quello dell'afta epizootica. La componente superficiale VP1 del virus aftoso, da anni nota come la proteina capace di indurre l'immunità contro il virus in toto, è stata prodotta per biosintesi da un ceppo apatogeno di *E. coli*, il ceppo K12. La VP1 da DNAr è stata sperimentata nella vaccinazione di bovini e suini, inducendo alti titoli in anticorpi neutralizzanti in grado di proteggere gli animali dall'infezione sperimentale. Il costo e la difficile realizzazione dei processi di purificazione e separazione degli antigeni sintetizzati dalle cellule batteriche morte nonché la pluralità antigenica del virus aftoso hanno molto raffreddato i primitivi entusiasmi (Panina e Agnoletti, 1987).

La presenza di contaminanti batterici, i costosi processi di purificazione ed i susseguenti controlli atti a dimostrare la rimozione degli elementi indesiderati hanno spinto la ricerca verso sistemi alternativi d'espressione, usando cellule di mammifero. In tal caso il gene desiderato viene inserito in un vettore virale (poxvirus, adenovirus, herpesvirus) sotto il controllo di un gene promotore. Cellule in coltura sono transfettate con tale virus il cui DNA si integra in modo stabile, come provirus, nel DNA della cellula ospite, che diviene capace di esprimere la proteina estranea.

Tra i vari virus vettori saggiati presenta indiscutibili vantaggi il virus vaccinia. Questo virus non oncogeno, possiede un ampio spettro d'ospite ed un genoma molto grande (187.000 coppie di basi). Molti dei suoi geni (almeno 9.000 coppie di basi) non sono necessari alla replicazione, per cui si rende possibile la loro sostituzione con geni provenienti da altri agenti. Possono essere inserite nella sezione del genoma oggetto di delezione fino a 25.000 coppie di basi di DNA estraneo (equivalente a circa 20 geni di medie dimensioni), ottenendo un virus che mantiene intatta la sua capacità di replicare. Tale virus può servire quindi come vettore di più geni estranei e fungere da vaccino polivalente.

È stato messo a punto un virus vaccinia ricombinante esprime la glicoproteina G della rabbia (Kieny et al., 1984). Questo virus, somministrato per via orale alle volpi, procioni e moffette in grado di stimolare la produzione di alti livelli di anticorpi neutralizzanti, nonché di conferire una protezione a lungo termine (Blancou et al., 1984).

Un virus vaccinia ibrido esprime antigeni al virus dell'influenza, dell'epatite B ed herpes simplex tipo 1 era capace di stimolare la produzione di anticorpi verso tutti e tre i virus quando inoculato nel coniglio.

Nonostante i buoni risultati ottenuti con il virus vaccinia ricombinante negli animali da esperimento, l'impiego di vaccini nell'uomo contro il virus vaccinia da solo responsabile di complicazioni, talvolta letali. Inoltre uomo ed animali trattati più volte con virus vaccinia risultano immuni anche verso il vettore stesso, per cui difficile ipotizzare una ripetizione degli interventi vaccinali con lo stesso vettore.

Al momento attuale il candidato di scelta sembra essere il virus del vaiolo aviario in quanto ha uno spettro limitato di ospiti ed è inoltre incapace di moltiplicarsi in ospiti non aviari.

PEPTIDI SINTETICI (vaccini sintetici)

La possibilità di realizzare vaccini sintetici è legata al fatto che in una proteina globulare esistono più determinanti antigenici. Solo pochi di essi sono importanti ai fini dell'instaurarsi di un'immunità protettiva e tali regioni immunoreattive isolate possono stimolare una risposta immunitaria nei confronti delle proteine intatte.

La tecnologia attuale permette di realizzare vaccini, sintetizzando brevi peptidi, corrispondenti a sequenze immunogene. Peptidi sintetici immunogeni corrispondenti al VP1 polipeptide dell'afta, legati ad un carrier (emocianina) sono stati capaci di indurre la formazione di anticorpi, alcuni dei quali neutralizzanti, nonché di proteggere dall'infezione aftosa animali da esperimento nonché bovini e suini (Bettle et al., 1982). Risultati meno incoraggianti sono stati ottenuti con altri virus (virus influenza A).

VACCINI ANTIDIOTIPO

Questa tecnica consente di vaccinare uomo ed animali con vaccini che non contengono alcuna componente dell'antigene contro il quale si vuole indurre la protezione.

La regione di un anticorpo che interagisce con un antigene è chiamata paratopo. Il paratopo a sua volta costituito da punti ipervariabili, ciascuno dei quali è fatto di un numero di determinanti chiamati idiotipi. Una porzione dell'idiotipo è il sito legato all'antigene e perciò gli anticorpi diretti contro questo sito, antidiotipo, mimano la conformazione dell'antigene e possono essere utilizzati come antigene surrogato (Reagan et al., 1983, Balbir e Glenn 1991). Questa tecnica stata utilizzata in animali da laboratorio per l'epatite B (Kennedy et al., 1984), reovirus (Sharpe et al., 1984), tripanosomiasi (Sacks e

Sher, 1983), *Sreptococcus Pneumoniae* (Mc.Namara et al., 1984).

VACCINI ANTIPARASSITARI

I vaccini antiparassitari vengono considerati a parte a causa della natura multicellulare e dell'ampia variabilità biologica dei parassiti, che spaziano dagli organismi intracellulari ai più complessi endo ed ectoparassiti.

Durante l'infestazione sono chiamati in causa dal sistema immunitario moltissimi antigeni; l'individuazione degli antigeni protettivi è difficile (Barbet, 1989).

Oggi sono commercialmente disponibili vaccini contro i vermi polmonari (larve irradiate) e contro i coccidi, ed inoltre sono disponibili ceppi attenuati di anaplasma e babesia.

Antigeni costituiti da sporozoi devitalizzati di coccidio sono risultati in grado di ridurre l'immunità protettiva nei polli.

La proteina di superficie dell'anaplasma marginale, denominata MSP-1, stata fatta esprimere mediante la tecnica del DNAr, in *E.coli* ed utilizzata come vaccino, che è risultato in grado di ridurre la parassitemia e la malattia clinica.

Sporozoi attenuati mediante irradiazione sono stati usati come vaccino contro la malaria stimolando un'immunità protettiva.

Nel caso della trichinella spiralis l'infestazione di un ospite animale dà luogo ad una solida immunità. Una associazione di antigeni, di vermi adulti e di larve usate come vaccino risultata in grado di conferire una buona immunità.

Antigeni intestinali di zecche di *Hae-munchus*, prodotti con tecniche di ingegneria genetica, sono in grado di indurre protezione in animali ospiti.

Il primo traguardo per allestire nuovi vaccini antiparassitari deve essere



comunque di migliorare l'immunità e di evitare problemi come: il rischio di introdurre specie di parassiti o ceppi in nuove aree; minima patologia associata con antigeni presenti.

Un secondo e non nuovo importante scopo è di fornire vaccini a basso costo che siano stabili in differenti ambienti e facilmente somministrabili. In conclusione nella preparazione di nuovi vaccini antiparassitari devono essere presi in considerazione i seguenti punti:

L'organismo ospite generalmente dà una risposta immunitaria verso numerosi antigeni provenienti da parassiti integri o morenti, ma non tutte le risposte sono in grado di conferire protezione;

- è possibile indirizzare la risposta immunitaria verso un limitato numero di antigeni appartenenti ad uno o più stadi del ciclo di vita di parassiti;

- gli antigeni più significativi sono spesso localizzati sulla superficie esterna del parassita;

- è possibile identificare gli antigeni di superficie con metodi biochimici ed immunochimici in modo da selezionare quelli che non presentano variazioni nella struttura durante

l'infestazione o tra differenti isolati parassiti; se gli antigeni presentano variazioni nella struttura è bene ricercare quelle regioni che non variano e verso le quali può essere indirizzata una risposta immunitaria protettiva;

– è possibile mettere a punto antigeni sintetici con la tecnica del DNA ricombinante. L'uso di proteine differenziate per la vaccinazione dovrebbe permettere la differenziazione degli animali vaccinati dagli infetti consentendo di eliminare riserve di infezione negli ospiti animali e nei vettori.

ADIUVANTI

Un modo per ottenere alte risposte anticorpali per lunghi periodi dopo un intervento vaccinale consiste nel creare un deposito di antigene nel punto di inoculazione. La persistenza dell'antigene in tale deposito e la sua lenta velocità di liberazione assicura una continua stimolazione del sistema immunitario. Questo effetto è ottenuto incorporando l'antigene in un appropriato veicolo. In mancanza di tale veicolo (inoculazione dell'antigene in soluzione acquosa) la



risposta immunitaria è transitoria e consiste prevalentemente di anticorpi IgM.

I componenti essenziali di un vaccino sono l'antigene specifico, il veicolo e gli immunostimolatori non specifici (IS). Questa divisione è tuttavia arbitraria in quanto è difficile tracciare una linea netta tra l'attività di una sostanza come veicolo o come immunostimolatore. Il termine adiuvante deve essere quindi considerato in termini generali come una sostanza in grado di incrementare una risposta immune specifica come una immunostimolazione aspecifica.

L'adiuvante completo di Freund (CFA) possiede queste caratteristiche ed è costituito dalla emulsione di un antigene in soluzione acquosa in olio minerale (con la funzione di assicurare la formazione di un deposito di

antigene a lenta liberazione nel punto di inoculazione), con l'aggiunta di micobatteri uccisi (immunostimolatori non specifici).

L'Arlacel A è usato per formare una stabile emulsione acqua in olio (W/O).

Il potente effetto immunostimolatore del CFA non è stato superato da nessun altro adiuvante. Comunque il CFA e l'IFA (adiuvante incompleto di Freund senza micobatteri) non sono stati autorizzati come adiuvanti nei vaccini per uso umano o veterinario a causa delle reazioni che essi producono, caratterizzate da granulomi nel punto di inoculazione, dolore e febbre. I composti di alluminio sono tra i veicoli più comunemente usati nei vaccini in commercio per uso umano e veterinario. Sebbene i sali di alluminio inducano occasionalmente

Impianto su larga scala di coltura cellulare in sospensione per la produzione di vaccini virali.

ascessi sterili essi offrono un'eccellente testimonianza di sicurezza.

Questi composti consistono di sali insolubili di idrossido di alluminio o fosfato di alluminio. L'adsorbimento stabile dell'antigene nei composti di alluminio crea un deposito di antigene, che si libera lentamente e prolunga la risposta anticorpale. In aggiunta a questo effetto i composti di alluminio probabilmente agiscono come veri immunostimolanti aspecifici (IS) in virtù delle loro proprietà chemiotattiche. Essi stimolano una produzione locale di granulomi costituiti prevalentemente da macrofagi. L'infiammazione indotta dai sali di alluminio contribuisce alla loro attività immunostimolante richiamando



vari tipi di cellule che possono secernere citochine biologicamente attive. La risposta anticorpale ad una singola iniezione di vaccino contenente sali di alluminio è breve, probabilmente a causa di una liberazione rapida dell'antigene dal punto di inoculazione e la perdita di stimolazione dell'immunità cellulomediata. Questo problema può essere parzialmente superato mediante ripetute inoculazioni dell'antigene. Un altro problema nella preparazione dei composti di alluminio consiste nella difficoltà di attuare condizioni fisico-chimiche riproducibili.

Come risultato si possono verificare, tra differenti batches del medesimo vaccino, variazioni nella stabilità di adsorbimento dell'antigene e dell'immunogenicità globale.

In conclusione i sali di alluminio

possono fungere da buon veicolo per antigeni buoni immunogeni oppure quando usato come veicolo per iniezioni booster; in altre situazioni esso può risultare inadeguato.

Grande successo come adiuvante hanno avuto le emulsioni acqua in olio (W/O). Come nel caso dei composti di alluminio, le emulsioni W/O agiscono sulla immunogenicità attraverso due meccanismi. In primo luogo l'antigene è intrappolato entro la fase di goccioline di acqua dell'emulsione lipidica, creando un deposito che libera antigene molto più lentamente che i composti di alluminio.

Questo probabilmente rende conto del fatto che con l'emulsione W/O una iniezione è spesso sufficiente per stimolare una risposta anticorpale persistente ad alti titoli. In secondo

Laboratorio di biotecnologie.

luogo la emulsione di olio stimola una reazione infiammatoria locale che consiste di macrofagi, che ingeriscono l'olio, linfociti e plasmacellule e persiste per almeno parecchi mesi. Questa reazione locale probabilmente implica la produzione di mediatori attivi che potenziano differenti settori della risposta immune.

Gli effetti locali associati con l'uso di oli minerali e Arlacel A ed il fatto che gli oli minerali non sono biodegradabili hanno indirizzato i ricercatori verso tre nuove prospettive: l'uso di oli biodegradabili, la riduzione del contenuto in olio nell'emulsione e la sostituzione dell'Arlacel A con sostanze emulsionanti più sicure.

Sono seguite infatti molte formulazioni W/O contenenti oli metaboliz-

zabili al posto di olii minerali (Woodhouse et al., 1964).

Uno di questi l'adiuvante 65, preparato con olio di arachidi, oppure con olii insaturi naturali come lo squalene implicati nella biosintesi del colesterolo (Whitehouse et al., 1974).

Gli olii biodegradabili sono quindi potenziali candidati per lo sviluppo di adiuvanti nei vaccini. Comunque sono ancora necessari degli studi più dettagliati per valutare il loro potenziale.

Nel tentativo di ridurre la quantità di olio sono state sviluppate emulsioni di olio in acqua (O/W) che contenevano solo 1-2% di olio ed inoltre fu sostituito l'olio minerale con olii metabolizzabili (Meyer et al., 1974). I liposomi, sfere artificiali di strati di fosfolipidi separati da comparti acquosi, possono fungere da veicoli per la erogazione di molecole solubili in acqua o grassi.

La incorporazione di antigeni entro i liposomi protegge tali molecole dalla degradazione. I liposomi possono essere costituiti da fosfolipidi sicuri e naturali e la loro composizione e proprietà possono essere variate a volontà. Il complesso liposomi/antigene produce titoli più alti di quando l'antigene è usato da solo.

La MDP (N-acetylmuramyl-L-alanina-D-isoglutamina) un analogo sintetico del peptidoglicano batterico possiede un'attività IS simile a quella dei micobatteri interi dell'FA.

MDP in soluzione acquosa non è pirogeno, il suo impiego nei vaccini è risultato in grado di stimolare una produzione anticorpale specifica con ampio raggio di batteri, virus, protozoi e antigeni proteici (Warren et al., 1986).

Interessanti prospettive sono oggi fornite anche dai cosiddetti ISCOMS (immunostimulating complex) nei quali l'antigene è presente in una costruzione accessibile, polimerica, e fisicamente ben definita (Lowgren, 1987). Un tipico ISCOM è costruibile con micelle di Quil A, derivato della saponina, che vengono usate come matrice alle quali le molecole

si attaccano dando origine a dei polimeri. Tali ISCOMS contengono quantità di adiuvante assai ridotte rispetto ai vaccini convenzionali con il vantaggio di evitare reazioni indesiderate.

La tecnologia degli ISCOMS è stata usata per aumentare l'immunogenicità delle proteine di superficie di molti virus ed in alcuni casi si sono osservate risposte anticorpali superiori di 10 volte rispetto alle particelle virali.

Gli ISCOMS sono pertanto immunogeni migliori delle proteine monomeriche e sono potenziali carriers immunostimolanti per piccole molecole di origine proteica.

Un vaccino ISCOM contro l'influenza equina è commercialmente disponibile.

Sono in corso di preparazione vaccini contro il PI-3, rabbia e morbillo.

GLI EFFETTI INDESIDERABILI DEI VACCINI

L'inoculazione di prodotti biologici, malgrado i progressi tecnologici realizzati nella preparazione di vaccini, può dar origine ad effetti indesiderati, che possono essere suddivisi nelle seguenti categorie:

- reazioni sistemiche;
- reazioni allergiche;
- reazioni locali;
- contaminazioni;
- potere patogeno residuo o difetto di inattivazione;
- effetti immunodepressivi;
- ricombinazione genetica.

Reazioni sistemiche

Queste reazioni si osservano dopo l'inoculazione di vaccini inattivati e la sintomatologia clinica generalmente limitata ad anoressia ed ipertermia, diviene manifesta verso la sesta ora dopo l'inoculazione del vaccino.

Negli animali alcune vaccinazioni possono essere seguite da una caduta significativa delle performances.

È nota inoltre anche una caduta significativa della produzione latteica in seguito a vaccinazione antiaftosa.

Reazioni allergiche

Sono note la reazione immediata e ritardata. Queste reazioni sono state descritte frequentemente in seguito alla vaccinazione antiaftosa. Le reazioni di tipo immediato sono caratterizzate da shock anafilattico, tremori, scialorrea, meteorismo, edema polmonare ed aborto.

Le reazioni di tipo ritardato sono soprattutto caratterizzate da eczemi papulari o seborroici, edema sottocutaneo, prurito, adenomegalia. Compaiono dagli 8 a 21 giorni dopo l'inoculazione vaccinale.

Reazioni locali

Sono legate all'utilizzo di vaccini inattivati e vengono distinte in allergiche ed infiammatorie.

Le reazioni allergiche locali, indotte prevalentemente da vaccini preparati su uovo embrionato ed incompletamente purificati, consistono nella presenza di un edema nel punto di inoculazione che scompare molto rapidamente.

Le reazioni infiammatorie possono essere causate da un effetto irritante, nel punto di inoculazione, dovuto al vaccino o ai suoi componenti. Gli adiuvanti oleosi possono indurre reazioni molto diverse che vanno dalla degenerazione muscolare, al granuloma, alla fibrosi ed all'ascesso. Al di là della natura dell'olio utilizzato bisogna tener conto di tipi di emulsione (W/O; O/W; W/O/W) che sono responsabili di lesioni in misura differenziata.

Le complicazioni sono anche legate alle condizioni di asepsi adottate nell'intervento vaccinale.



Contaminazioni

Le contaminazioni più frequenti sono causate da mycoplasmi.

Le contaminazioni da micoplasmi di origine umana sono indice di errori di manipolazione, mentre quelli di origine animale si possono far risalire all'impiego di prodotti di origine animale (cellule, siero, uova).

Altri agenti di contaminazione possono essere il virus della malattia delle mucose (BVD) ed il virus della Border Disease.

Molti vaccini aviari sono facilmente contaminati con diversi virus, per esempio il vaccino contro la malattia di Marek è risultato contaminato dal virus della reticoloendoteliosi e dall'agente dell'anemia dei pulcini.

L'origine di queste contaminazioni è dovuta nella maggior parte dei casi alle uova ed alle colture cellulari, queste ultime possono a loro volta essere contaminate dai sieri utilizzati per la loro replicazione.

Bisogna ricordare che anche la tripsina, essendo preparata con pancreas di suino, può essere contaminata da parvovirus suino.

Le conseguenze delle contaminazioni possono talvolta causare gravi danni come nel caso di vaccini vivi conta-

minati da virus BVD e della Border Disease in quanto i feti si rivelano particolarmente sensibili a questi pestivirus.

Anche nei vaccini inattivati la presenza di virus BVD in grado di indurre dopo 3 o 4 inoculazioni la comparsa di anticorpi neutralizzanti il virus della Peste Suina Classica complicando notevolmente l'interpretazione diagnostica ed i piani di radiazione con conseguenze sanitarie ed economiche non trascurabili.

Potere patogeno residuo o difetto di inattivazione

Nonostante i controlli e gli studi preliminari necessari prima dell'impiego di un vaccino può talvolta capitare che in condizioni particolari e con un impiego massivo nella pratica si verifichino incidenti dovuti al potere patogeno residuo o difetto di inattivazione.

Incidenti di questo tipo si sono verificati con ceppi vaccinali di laringotracheite aviare. Questi ceppi vengono utilizzati di regola per via oculare, ma quando sono inoculati per via intratracheale si possono osservare mortalità che possono raggiun-

gere anche il 40%.

Errori nei processi di inattivazione di virus patogeni possono aver conseguenze drammatiche.

Effetti immunodepressivi

Alcuni ceppi vaccinali vivi modificati sono in grado di indurre fenomeni di immunodepressione nell'animale vaccinato. Esempi in tal senso sono stati dimostrati per il vaccino lapinizzato contro la peste suina classica. Con alcuni ceppi vaccinali del virus IBR sono risultati in grado di aumentare il potere patogeno di *Moraxella bovis*, agente eziologico della cherato-congiuntivite del bovino.

Ricombinazioni genetiche

Questo problema è emerso con la commercializzazione di vaccini di nuova generazione ottenuti con la tecnica del DNA ricombinante, anche se tale problematica era già presente con i vaccini vivi a virus

modificati, detti convenzionali, che in ultima analisi erano e sono costituiti da virus modificati naturalmente o per selezione.

La probabilità che si verifichi un fenomeno di ricombinazione è tuttora difficile da valutare.

CONCLUSIONI

Siamo alle soglie dell'anno 2000, circa 190 anni, più o meno, dopo che per fare il primo vaccino si era ricorsi ad un bovino.

Oggi con l'avvento delle biotecnologie sono stati chiariti molti dei meccanismi patogenetici nonché la risposta immunitaria verso le malattie da virus e batteri. Questi progressi scientifici sono alla base della preparazione per il futuro di vaccini più efficaci e più affidabili.

Negli ultimi dieci anni sono stati messi a punto con tecniche innovative molti nuovi vaccini, ma pochi di essi sono entrati nella produzione commerciale.

Si sono verificati problemi relativi alla stabilità dei ceppi e fenomeni di scarsa immunogeneticità ed inoltre i costi di produzione per i vaccini di nuova generazione possono essere più elevati che per i vaccini convenzionali.

L'autorizzazione all'impiego di vaccini allestiti con la tecnica del DNA ricombinante può incontrare grosse difficoltà, poiché l'uso di tali vaccini può essere interpretato come la liberazione nell'ambiente di microrganismi manipolati geneticamente.

Tuttavia visti i progressi registrati in questi ultimi anni, la scienza dei vaccini può giocare un ruolo sempre più incisivo nella prevenzione ed eradicazione di molte malattie degli animali.

Le fotografie che illustrano l'articolo rappresentano strutture ed impianti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Brescia.

BIBLIOGRAFIA

BALBIR S.B., GLENN A.M. (1991) Antidyotypes as potential Vaccines and immunomodulators against Poultry diseases. *Crit. Rev. Poultry Biol.* 3, 53

BARBET A.F. (1989) Vaccines for parasitic infectious. *Ad. in Vet. Science and comp. med.* 33, 345.

BITTLE J.L., HOUGHTON R.A., ALEXANDER H., SHINNICK T.M., SUTCLIFF J.G., LERNER R.A., ROWLANDS D.J., BROWN F. (1982) Protection against foot and mouth disease by immunisation with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence. *Nature* 198, 30.

BLANCOU J., KIENY M.P., LATHER R., LECUCQ J.P., PASTORET P., SOULEBOT J.P., DESMOTTRE P. (1986) Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. *Nature* 332, 373.

CALMETTE A. (1927) La vaccination preventive contre la tuberculose par la B.C.G. Paris. Masson.

COX H. (1938) Use of yolk sac of developing chick embryo as medium for growing rickettsiae of Rocky Mountain spotted fever and typhus groups. *Pub. Health Rep.* 53, 2241.

DALLAS W.S., GILL D.M., FALKOW S. (1979) Cistrons encoding Escherichia coli heat-labile toxin. *J. Bact.* 139, 850.

ENDERS J., WELLER T., ROBBINS F. (1949) Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues. *Science* 109, 85.

GLENNY A., HOPKINS B. (1923) Diphtheria toxoid as an immunising agent. *Br. J. Exp. Path.* 4, 283.

HOISETH S.K., STOCKER B. (1981) Aromatic dependent Salmonella typhimurium are non virulent and effective as live vaccines. *Nature* 291, 328.

HORSFALL F.Jr., LENNETTE E., RICKARD E., HIRST G. (1941) Studies on the efficacy of a complex vaccine against influenza A. *Pub. Health. Rep.* 56, 1863

JENNER E. (1798) An inquiry into causes and effects of the variolae vaccinae. London: Low cit. da Stanley A. e al. (1985) *World's Debt to Pasteur*, pag. 83-106 Alan R. Liss. Inc.

KENNEDY R.C., MELNICK J.L., DREESMANN G.R. (1984) Antibody to hepatitis B virus induced by injecting antibodies to the idiotype. *Science* 223, 930

KIENY M.P., LATHE R., DRILLIEN R., SPEHNER D., SKORY G., SCHMITT D., WIKTOR T., KOPROWSKY H., LECUCQ J.P. (1984) Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. *Nature* 312, 163.

KOLLE W. (1896) Zur aktiven Immunisierung des Menschen gegen Cholera. *Zbl. Bakt.* 19, 87

LOVGREN K. (1987) Construction and potential of the ISCOM as immunogen. THESIS from the Department of Veterinary Microbiology. Faculty of veterinary Medicine. UPPSALA.

MEYER T.J., RIBI E., AZUMA I., ZBAR B. (1974) Biologically active components from mycobacterial cell walls. Suppression and regression of strain guinea pig hepatoma. *J. Natl. Cancer. Inst. (U.S.)* 52, 103

MURPHY B.R., SLY D.L., TIERNEY E.L., HOISIER N.T., MASSICOT J.D., LONDON W.T., CHANOCK R.M., WEBSTER R.G., HINSHAW V.S. (1982) Reassortant virus derived from avian and human influenza A viruses is attenuated and immunogenic monkey. *Science* 218, 1330.

MURPHY B.R., BUCKLER-WITHE A., TIAN S.F., CHANOCK R., CLEMENTS M., MAASAB H.F., LONDON W. (1984) in "Modern approaches to vaccines. (R. CHANOCK, R. LERNER eds). pp. 329-337. Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, New York.

McNAMARA M.K., WARD R.E., KOEHLER H. (1984) Monoclonal idiotype vaccine against Streptococcus pneumoniae infection. *Science* 226, 1325.

VAN OIRSCHOT J.T., GIELKENS A.L., MOORMANN R.J., BERNIS A.J. (1990) Marker vaccines, virus protein-specific antibody assays and the control of Aujeszky's disease. *Vet. Microbiol.* 23, 85

PANINA G.F., AGNOLETTI F. (1987) Nuove tecnologie per la produzione di vaccini. *Selez. Vet.* 28, 1755

PASTEUR L. (1880) De l'attenuation du virus du cholera des poules. *C.R. Acad. Sci. Paris* 91, 673

PASTEUR L., CHAMBERLAND C., ROUX E. (1881) Sur la vaccination charbonneuse. *C.R. Acad. Sci. Paris* 92, 1

PASTEUR L. (1885) Methode pour prevenir la rage apres morsure. C.R. Acad. Sci. Paris 101, 765.

RAMON G., ZOELLER C. (1927) L'ama-toxine tetanica et l'immunisation active de l'homme vis-a-vis du tetanos. Ann. Inst. Pasteur Paris 41, 803

REAGAN K., J., WUNNER W.H., WIKTOR I.J., KOPROWSKI H. (1983) Anti-idiotypic antibodies induce neutralizing antibodies to rabies virus glycoprotein. J. Virol. 48, 660

ROUX E., YERSIN A. (1888) Contribution a l'etude de la diphtherie. Ann. Inst. Pasteur Paris 2, 629

SACKS D.L., SHER A. (1983) Evidence that anti-idiotypic induced immunity to experimental african trypanosomiasis is genetically restricted and requires recogni-

tion of combining site-related idiotypes. J. Immun. 131, 1511

SHARPE A.H., GAULTON G.N., MCDADE K.K., FIELDS B.B., GREEN N.I. (1984) Syngenic monoclonal antiidiotypic can induce cellular immunity to reovirus. J. Exp. Med. 160, 1195

SMITH H.W. (1955) The immunization of mice, calves and pig against Salmonella dublin and Salmonella choleraesuis infections. J. Hyg. Camb. 63, 117

SMITH H.W. (1956) The use of live vaccines in experimental Salmonella gallinarum infection in chickens with observation on their interference effect. J. Hyg. Camb. 54, 419

STOCKER B., HOISETH S.K., SMITH B. (1983) Aromatic dependent Salmonella spp. as live vaccines in mice and calves. Dev. Biol. Standards 53, 47

WAHDAN M.H., SERIE C., CERISIER Y., SALLAM S., GERMANIER R. (1982) A controlled field trial of live Salmonella typhi strain Ty 21a oral vaccine against typhoid. J. Infect. Disease 145, 292

WARREN H.S., VOGEL F.R., CHEDID L.A. (1986) Current status of immunological adjuvants. Ann. rev. Immunol. 4, 369

WHITEHOUSE M.W., ORR K.J., BECK F.W., PEARSON C.M. (1974) Freund's adjuvants: relationship of rthritogenicity and adjuvanticity in rats to vehicle composition. Immunology 27, 311

WOODHUR A.F., METZGAR D.P., STIM T.B., TUTTEL A.A., HILLEMANN M.R. (1964) New metabolizable immunologic adjuvant for human use. Development and animal immune response. Prsc. Soc. Exp. Biol. Med. 116, 516



(*) Il Prof. Ezio Lodetti, nato a Brescia il 7 maggio 1940, si è laureato in Medicina Veterinaria nel 1963. Assistente nell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia dal 1966. Aiuto dal 1974. Libero Docente in Virologia Veterinaria nel 1971. Laureato in Medicina e Chirurgia nel 1980. Attualmente ricopre la qualifica di Veterinario Dirigente presso l'Istituto Zooprofilattico di Brescia. I suoi interessi scientifici si sono rivolti verso le patologie ad eziologia virale delle diverse specie animali.



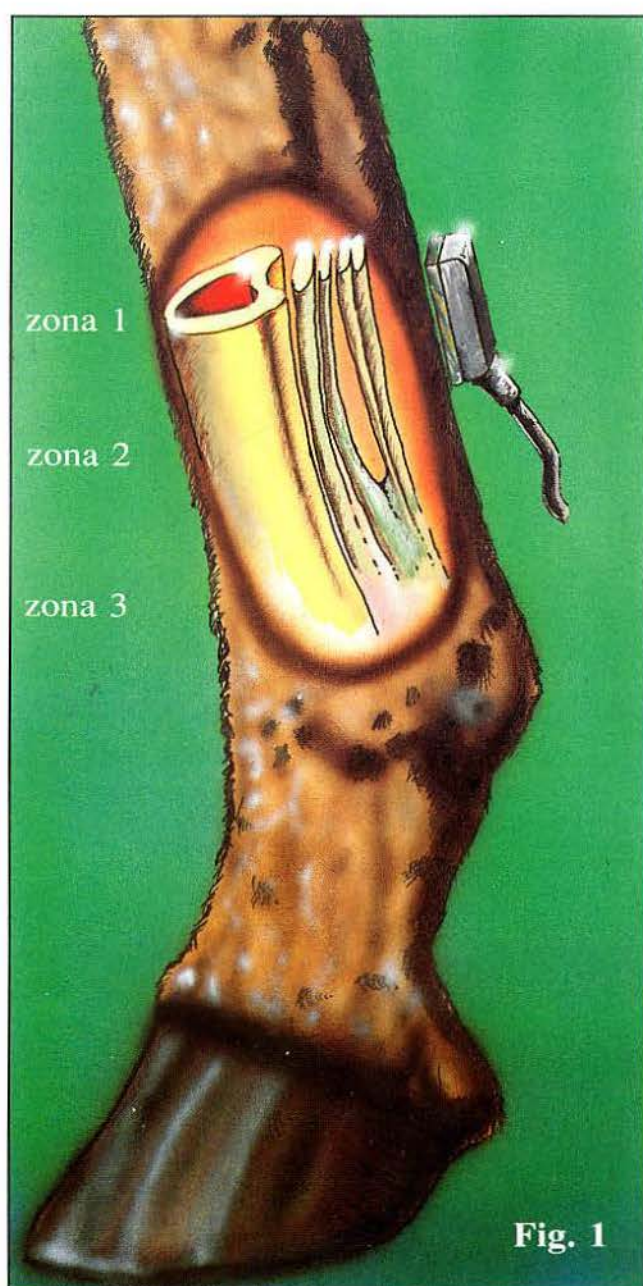
(**) Il Dott. Ivano Massirio, nato a Torino il 12 febbraio 1960 e si è laureato presso la Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Torino nel 1984. Nel 1985 ha frequentato la Scuola per La Ricerca Scientifica a Brescia e dal 1987 è di ruolo all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, presso la sede di Brescia. Si occupa principalmente di epidemiologia finalizzata all'implementazione di metodi di profilassi per le malattie infettive degli animali da reddito e le zoonosi.



(***) Il Cap. vet. Marco Ongaro si è laureato in medicina veterinaria presso l'Università di Perugia nel 1985. Ha frequentato l'85° Corso AUCV ed è stato nominato tenente in spe nel 1987. Ha ricoperto l'incarico di "Ufficiale Addetto" presso il Comando del Servizio Veterinario della Regione Militare della Sardegna e di Capo Servizio Veterinario presso la Brigata Meccanizzata "Brescia". Attualmente presta servizio presso il Comando Servizio Veterinario della Regione Militare Tosco-Emiliana.

ESAME ECOGRAFICO DELLE STRUTTURE PALMARI DELLA REGIONE METACARPALE DEL CAVALLO: TECNICA E RISULTATI

B. Peirone (*), A.M. Pilone (**), L. Pozzi (***), S. Nardi (****)



RIASSUNTO

Vengono descritti i metodi utili, nella pratica professionale, per la scansione delle strutture palmari della regione metacarpale del cavallo.

Si presentano le immagini ottenute e si indica il significato del disegno normale anche per confronto tra tipi diversi di sonde e modalità differenti di scansione.

Parole chiave: ultrasuoni, sonda lineare, sonda settoriale, ecografia dell'apparato tendineo del cavallo.

SUMMARY

The Authors describe their experiences about methods for the ultrasound investigation of the palmar structures of the metacarpal region in the horse.

Normal images obtained by linear and sector array are presented and their evaluation is referred too.

Key words: Ultrasounds, linear array, sector array, ultrasound examination of horse tendons.

INTRODUZIONE

La letteratura registra più lavori sull'esame ecografico dei tessuti e strutture della porzione palmare della regione metacarpale del cavallo (1-17).

Dall'esame di questi lavori e dall'analisi dei differenti strumenti impiegati, si evidenziano l'importanza e l'utilità dell'esame ecografico, ormai divenuto indispensabile complemento nella diagnosi e nel follow-up delle disfunzioni locomotorie del cavallo, dipendenti da lesioni tendinee, desmiche ed anche articolari (12).

La nostra attenzione si è rivolta alle strutture tendinee e legamentose che hanno sede nella porzione palmare della regione metacarpale del cavallo, per ottenere quadri di riferimento che riuscissero utili per l'applicazione dell'ecografia da parte anche dei medici veterinari pratici. I settori studiati sono notoriamente coinvolti da lesioni acute e croniche di rilievo per il possibile impedimento allo svolgersi di una normale attività sportiva.

MATERIALI E METODI

Presso la Scuola Militare di Equitazione in Montelibretti sono stati esaminati 16 cavalli sportivi, 13 maschi

e 3 femmine, di età compresa tra i 5 ed i 25 anni. Tutti gli animali presi in considerazione erano clinicamente sani ed in particolare risultavano esenti da pregresse od attuali malattie o lesioni tenodesmiche del bipede anteriore.

Le ecografie sono state eseguite con l'ecografo trasportabile Aloka SSD-260, equipaggiato di sonda sector ASU 32H5 da 5 MHz e di sonda lineare UST 5813-5 da 5 MHz.

Le scansioni sia longitudinali con sonda lineare che trasversali con sonda sector sono state eseguite interponendo tra sonda e cute un cuscinetto siliconico a parallelepipedo (2 x 5 x 7 cm) ed impiegando generosa quantità di gel "Aquasonic".

La cute della superficie palmare della regione metacarpale è stata tosata e poi rasata dal carpo fino al nodello. La regione preparata è stata così suddivisa:

a) per le scansioni longitudinali con sonda lineare, 3 zone (11): 1, prossimale; 2, intermedia; 3, distale (Fig. 1).

b) per le scansioni trasversali con sonda sector, sei zone (5) e precisamente zona 1A e 1B, prossimali; zona 2A e 2B, medie; zona 3A e 3B, distali. Così per complessive 6 zone di scansione, ciascuna lunga circa 4 cm (Fig. 2).

Tutte le scansioni, eseguite con procedimenti standard, sono state compiute orientando il fascio ultrasonoro in direzione palmare-dorsale. Per queste prove su soggetti normali non si è quindi fatto ricorso

alle scansioni oblique indicate da Denoix (1) per l'esame analitico di singoli tendini, o della briglia carpica (BC), o del legamento sospenditore del nodello (LSN). Guadagno, profondità e contrasto delle scansioni sono stati regolati caso per caso in modo da ottenere un'adeguata scala di grigi e comunque e sempre una buona risoluzione delle immagini per il sommarsi degli echi che le costruivano.

Su tutti i cavalli si sono eseguite per prime le scansioni longitudinali con sonda lineare le quali forniscono un'immagine ecografica di tratti più lunghi.

Per questo motivo ed ai fini di uno screening di settore, la sonda lineare è più adeguata.

Successivamente e su ciascun soggetto, si è proceduto alle scansioni trasversali con sonda sector, per l'individuazione e la registrazione degli echi secondo piani che informano dello stato e struttura tenodesmici a quel determinato livello trasversale, in direzione palmare-distale. Entrambe le scansioni, longitudinale e trasversale, sono state eseguite con l'arto sottoposto al carico.

Le immagini apparse sul monitor sono state registrate con sistema Polaroid, pellicola 611 Twin e/o con macchina fotografica Reflex a distanza schermo-pellicola di 30 cm, impiegando pellicola Kodachrome 160 Professional per luce artificiale e con tempo di posa e diaframma idonei ad eliminare la banda passante sul monitor.

Fig. 1: Disegno schematico della regione metacarpale del cavallo: suddivisione in tre settori e corretto posizionamento della sonda lineare.

Fig. 2: Disegno schematico della regione metacarpale del cavallo: suddivisione in sei settori e corretto posizionamento della sonda sector.

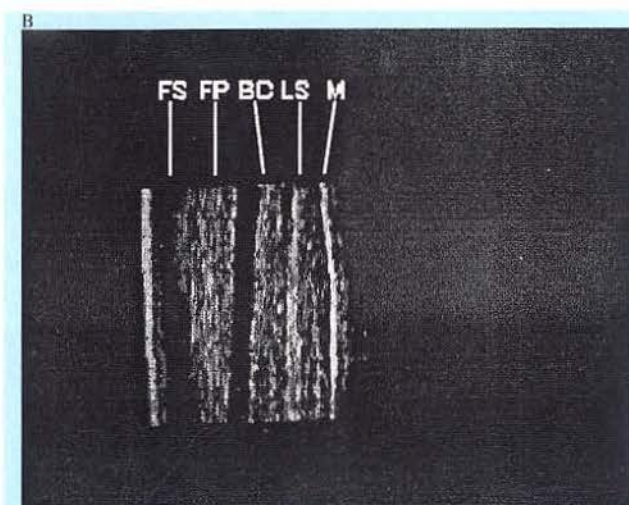
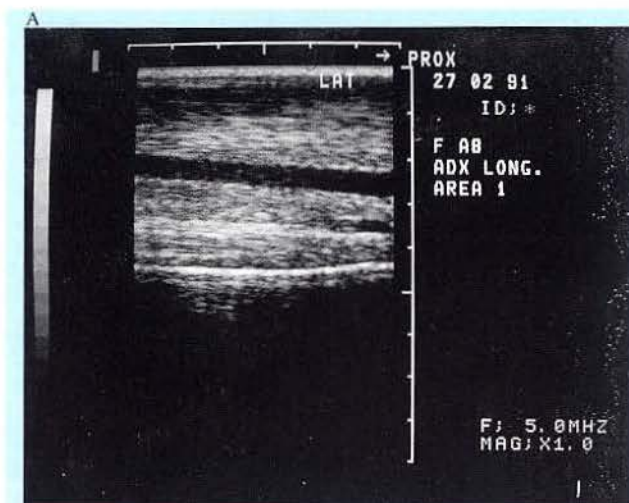


Fig. 3: Zona 1 (metacarpo prossimale), sonda lineare, scansione longitudinale. Cavallo femmina, 8 anni.
A: ecografia; B: riproduzione computerizzata FS: tendine flessore superficiale; FP: tendine flessore profondo;
BC: briglia carpica; LS: legamento sospenditore del nodello;
M: terzo osso metacarpo. La banda anecogena tra FP e BC rappresenta il liquido contenuto nella guaina tendinea.

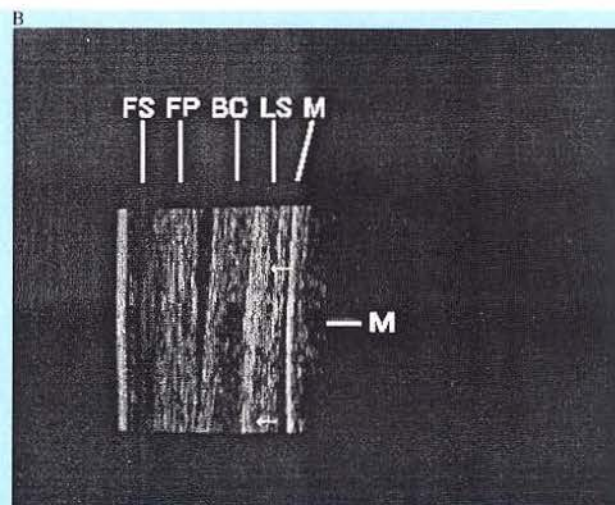
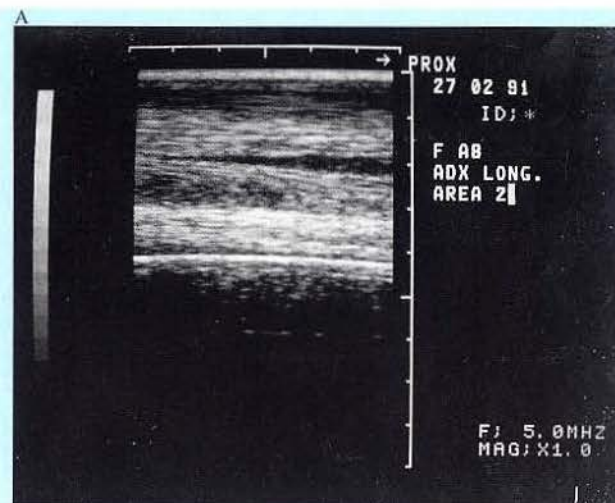


Fig. 4: Zona 2 (metacarpo medio), sonda lineare, scansione longitudinale.
A: ecografia; B: riproduzione computerizzata.
La freccia bianca indica la linea anecogena di separazione tra le due porzioni del LS. Nella parte distale BC converge verso FP.

RISULTATI

Scansioni longitudinali

Con le scansioni longitudinali gli echi prodotti dai tessuti di copertura si disegnano come linea continua ben ecogena, omogenea.

L'interfaccia tra tessuti di copertura e struttura tendinea del tendine flessore superficiale (TFS) è debolmente ecogena e non ben individuabile. È invece evidente la serie di echi a fasci paralleli del TFS peraltro meno ecogeno dei piani di copertura (Fig. 3, 4,

5). Tra TFS e tendine flessore profondo (TFP) si interpone una linea molto sottile, fortemente ecogena, a cui seguono echi di minore brillantezza, ad andamento longitudinale per fibre parallele, che identificano il TFP. Questo è nettamente più ecogeno del TFS, come già segnalato in letteratura (6, 9, 16).

Agli echi del TFP segue uno spazio anecogeno più o meno ampio e simmetrico, in rapporto alla posizione ed alla lunghezza della sonda, che indica il contenuto della guaina sinoviale tendinea. Nei differenti livelli 1, 2 e

3, lo spessore della sonda e la sua posizione non hanno raccolto echi vascolari.

La sottostante BC appare molto ecogena, in quanto costituita da fasci compatti di fibre parallele in direzione prossimo-distale. Il suo spessore appare maggiore nella zona 1 e nella parte prossimale della 2, diminuisce a partire dalla porzione distale della 2 per fondersi con gli echi del TFP nella parte prossimale della 3 a livello della fossa sopracondiloidea. Procedendo in direzione dorsale si osservano gli echi del LSN dal quale la

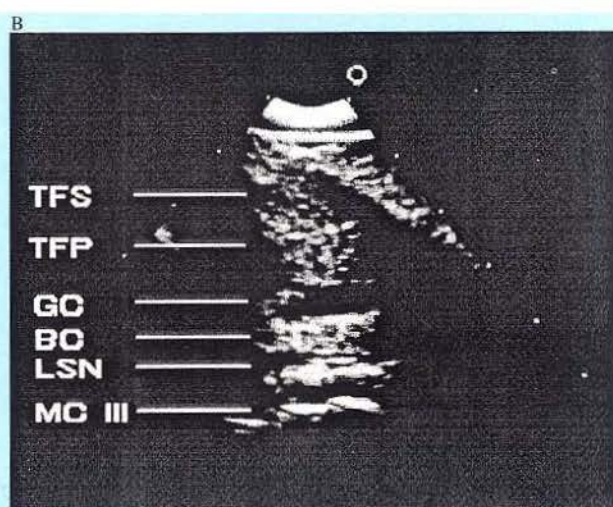
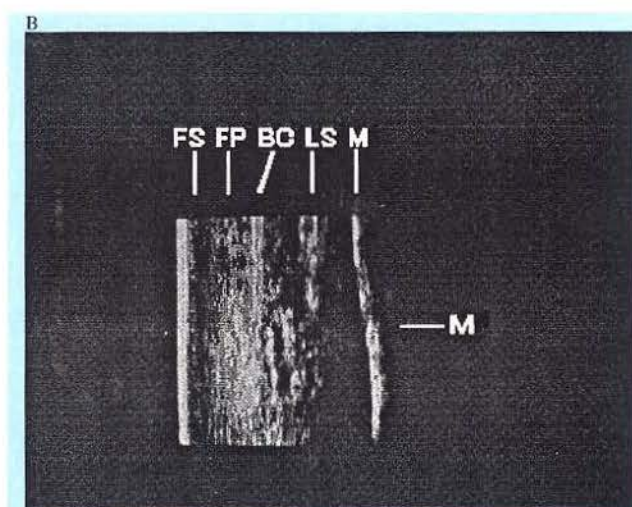
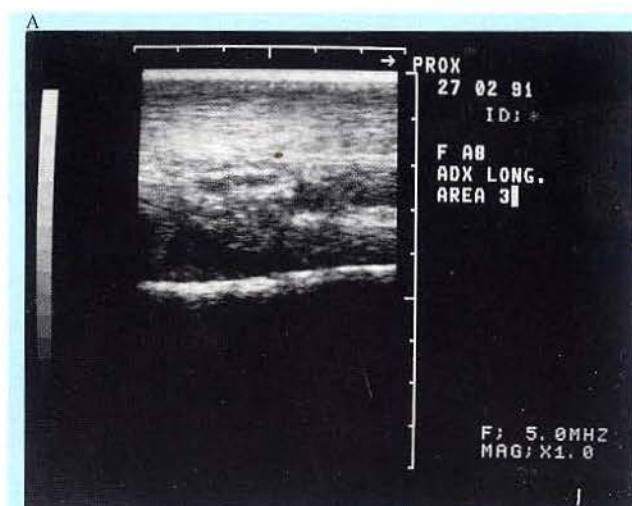


Fig. 5: Zona 3 (metacarpo distale), sonda lineare, scansione longitudinale. A: ecografia; B: riproduzione computerizzata. Nella parte prossimale BC si fonde con FP e l'immagine del LS si interrompe nella metà distale per la sua biforcazione in briglia mediale e laterale.

Fig. 6: Zona 1A, sonda sector, scansione trasversale. Cavallo maschio, 20 anni. A: ecografia; B: riproduzione computerizzata. TFS: tendine flessore superficiale; TFP: tendine flessore profondo; GC: guaina carpica; BC: briglia carpica; LSN: legamento sospensore del nodello; MC III: terzo osso metacarpo.

BC è separata da una sottile banda anecogena che va ampliandosi in direzione prossimo-distale.

Gli echi del LSN sono imprecisi nella zona 1, più netti nella 2 e si riducono di numero, non di intensità, nella 3 per poi scomparire. Quest'ultima immagine corrisponde alla biforcazione del LSN nelle due briglie mediale e laterale.

Il disegno ecografico del LSN è meno definito e leggermente meno ecogeno rispetto agli echi prodotti dall'adiacente BC e dal TFP. La sua immagine è costituita da aree molto

ecogene ed aree meno ecogene che rappresentano i segnali rinviiati dai diversi tessuti, muscolare, fibroso e connettivale, che nell'insieme lo costituiscono.

In 6 cavalli nelle zone 1 e soprattutto 2 il LSN è apparso diviso in due porzioni: una, più spessa, a ridosso del terzo osso metacarpo (MC III); l'altra, più sottile, orientata palmarmente (Fig. 4). Questo dato è rilevato già in letteratura (6, 13).

La linea fortemente ecogena registrata a massima profondità (4-5 cm) è prodotta dalla superficie palmar

ossea dello stesso MC III. Il profilo degli echi della parte palmare del MC III, rettilinei in direzione prossimo-distale e sottili nella parte distale della zona 1 e lungo tutta la 2, disegnano un profilo a convessità dorsale nella 3.

Scansioni trasversali

ZONA 1A (Fig. 6)

Nella zona 1A il TFS disegna una struttura ovalare, le cui dimensioni sono di circa 0.8 cm in direzione palmar-dorsale e di circa 1.0 cm in

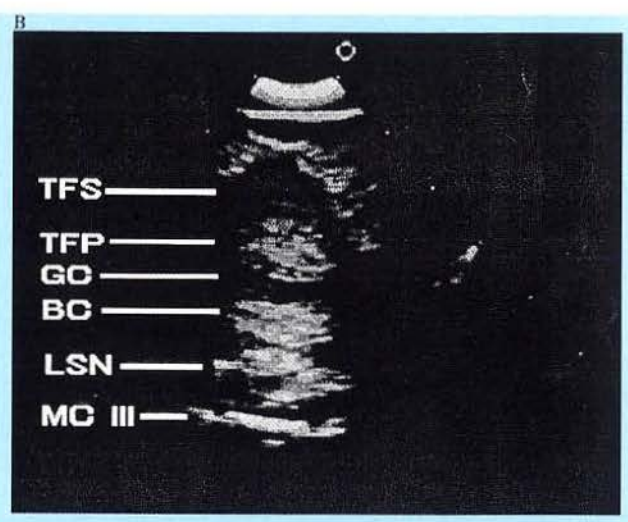


Fig. 7: Zona 1B, sonda sector, scansione trasversale. A: ecografia; B: riproduzione computerizzata. La superficie mediale è sul lato sinistro, quella laterale sul destro.

direzione latero-mediale.

I margini sono curvi sui versanti mediale, laterale e palmare, rettilineo sul versante dorsale dove il TFS continua con gli echi del TFP, dal quale appare separato da una sottile interfaccia lineare, scarsamente ecogena. Il TFP è più ecogeno del TFS, la forma della sezione è più tondeggiante, le dimensioni sono simili.

Una seconda banda anecogena dello spessore di circa 3 mm, rappresentante il fluido contenuto nella guaina carpica, separa il TFP dalla sottostante BC. Quest'ultima ha dimensioni di 0.4-0.7 cm in direzione palmare dorsale, di 1.4-1.6 cm in direzione medio-laterale, ed appare assai ecogena.

Il LSN è separato dalla sovrastante BC da una sottile linea anecogena, di non facile identificazione, i cui echi sono finemente disegnati e non del tutto omogenei: questa interfaccia è infatti costituita anche da zone di tessuto adiposo ed areole connettivali disperse, da fibre collagene anecogene e muscolari ipoecogene. Le dimensioni del LSN sono ridotte in quanto la zona 1A coincide con la sua origine e pertanto si hanno echi rinviati da poche fibre.

Infine, e nella parte più distale dal punto di applicazione della sonda sector, una linea sottile fortemente ecogena rappresenta la superficie palmare del MC III.

ZONA 1B (Fig. 7)

La zona 1B si distingue dalla zona 1A in quanto gli echi di tutte le strutture scandite trasversalmente in direzione palmare-dorsale, sono meglio risolti. Inoltre l'immagine originata dagli echi del TFS risulta meno ampia; la forma dell'insieme degli echi del TFP, egualmente scanditi, è tondeggiante; il LSN è molto distante dalla linea iperecogena del MC III e le sue dimensioni sono aumentate.

ZONA 2A (Fig. 8)

In questa sede si osserva assottigliamento dell'insieme degli echi emessi dalla BC, che dista circa 2 mm dal LSN. Sia nel versante mediale che in quello laterale, sono osservate delle zone rotondeggianti anecogene che segnalano le vene palmari.

Le dimensioni del LSN in direzione palmare-dorsale sono di 0.9-1.0 cm ed in direzione medio-laterale sono di 1.8-2.0 cm. Sono questi i valori massimi di questa struttura per tutte le scansioni trasversali effettuate.

ZONA 2B (Fig. 9)

A questo livello il profilo trasversale del TFS è appiattito ed assume la forma a mezzaluna, il "croissant" degli AA. Francesi (1), con intensità di echi non modificata rispetto alle scansioni trasversali precedenti. Sono visibili anche gli echi della BC, a contatto con quelli del TFP.

Non si raccolgono echi dalla guaina carpale. Le zone anecogene rappresentanti i vasi palmari convergono centralmente.

ZONA 3A (Fig. 10)

BC e TFP danno echi congiunti che non permettono la differenziazione di immagine delle due strutture. Del LSN si rilevano bene gli echi forniti dalla sua iniziale divisione nelle due briglie mediale e laterale, più ecogena la prima rispetto alla seconda. Questo dato non ha avuto riscontro costante in tutti i soggetti esaminati.

ZONA 3B (Fig. 11)

Nella zona 3B le dimensioni del TFS sono ulteriormente variate: lo spessore in direzione palmare-dorsale è di 4 mm, l'asse in direzione medio-laterale è allungato a 2.5 cm; gli echi del TFS sembrano abbracciare il TFP, i cui echi si raccolgono entro un perimetro ovoidale il cui asse maggiore è quello medio-laterale.

Gli echi delle due briglie mediale e laterale del LSN sono particolarmente forti, anche se disomogenei, risultando, come in 3A, leggermente più ricchi e più fitti quelli della briglia mediale rispetto alla laterale.

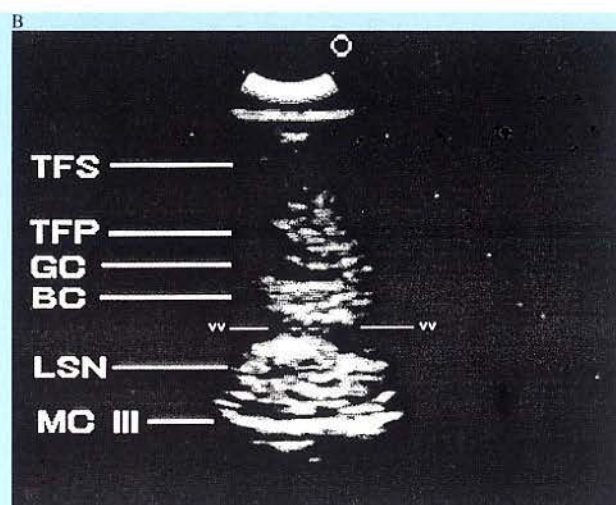


Fig. 8: Zona 2A, sonda sector, scansione trasversale. A: ecografia; B: riproduzione computerizzata. vv: vene palmari. Il LSN raggiunge le sue massime dimensioni.

DISCUSSIONE

Riguardo alla scelta dell'apparecchio più adatto per la diagnostica ultrasonografica di tendini e legamenti, le nostre esperienze ci hanno persuaso che ogni ecografo corrisponde bene, purché disponga di una scala dei grigi sufficientemente estesa che consenta il rilievo delle disomogeneità fini, molto significative per la diagnosi delle lesioni. Lo stesso ecografo, con altra sonda, può essere utile nella pratica ginecologica-ostetrica e, al caso, nell'esame di altri tessuti molli, per la precisazione dell'entità ed estensione di lesioni traumatiche frequenti nel cavallo sportivo.

È noto che esistono differenti punti di vista sul tipo di sonda da utilizzare nell'esame dei tendini e legamenti. Poiché sono state utilizzate per questo studio sia la sonda lineare che quella settoriale aventi eguale frequenza, si ritiene di poter discutere il problema della scelta della sonda con adeguata conoscenza ed esperienza, oltre che facendo riferimento ai dati della letteratura.

Autori statunitensi (6,8,14,15) utilizzano per ogni tipo di scansione sonde sector. Autori francesi ed inglesi (1, 2, 4, 5, 12) prediligono sonde lineari di breve lunghezza, ricorrendo (1) anche a scansioni oblique elettivamente condotte su

una specifica struttura tendinea o desmica, nella quale la precedente scansione longitudinale abbia rilevato echi anormali. Entrambi concordano sull'impiego di sonde a frequenza 7.0-7.5 MHz.

La nostra esperienza si è svolta con due sonde: una lineare, che in tre "campi" ad asse maggiore prossimo-distale ha permesso una scansione di screening e di analisi; una sector, che in sei "campi", ad asse maggiore palmare-dorsale, ha esaminato la stessa parte per fasi successive.

Il nostro suggerimento e la nostra esperienza, che crediamo utili, sono quindi di procedere dapprima, con la sonda lineare, a scansioni longitudinali che comprendano il TFS, il TFP, la BC ed il LSN, in direzione prossimale-distale. Al caso, si può ricorrere a scansioni prossimali-distali oblique, medio-laterali e latero-mediali (1).

È utile, per queste scansioni, disporre di una sonda lunga non più di 3-4 cm in modo che essa si adatti alla morfologia della parte da esaminare e ben aderisca alla superficie, sempre con interposizione di abbondante gel di contatto.

La sonda lineare è stata più facile da usare: nella scansione longitudinale delle strutture tenodesmiche ha assicurato un contatto stabile e migliore; ha meglio seguito l'andamento ed il

disegno delle fibre per tratti relativamente più lunghi; mai ha presentato difficoltà di focalizzazione. Nelle scansioni trasversali ha dato, però, immagini di qualità inferiore a quelle fornite, nelle stesse scansioni, dalla sonda sector.

Le scansioni con sonda sector seguono a quelle di screening eseguite con la sonda lineare. Per nostra esperienza la sonda sector, della quale esiste un'ampia serie di modelli di differente disegno, caratteristici per ogni tipo di ecografo, è quella che può meglio adattarsi alla morfologia della parte, soprattutto nelle posizioni immediatamente distali al carpo ed al garretto e prossimali al nodello. Inoltre è quella che meglio risponde per le scansioni trasversali, soprattutto quando si ricercano informazioni di dettaglio in precise localizzazioni. Nelle scansioni longitudinali il contatto non sempre riesce perfettamente e nascono difficoltà di focalizzazione dell'immagine che richiedono interventi di taratura su guadagno e contrasto e che perciò allungano i tempi di lavoro soprattutto quando l'operatore non disponga di un aiuto esperto. A nostro parere, infine, la sonda sector risponde meno bene per la scan-

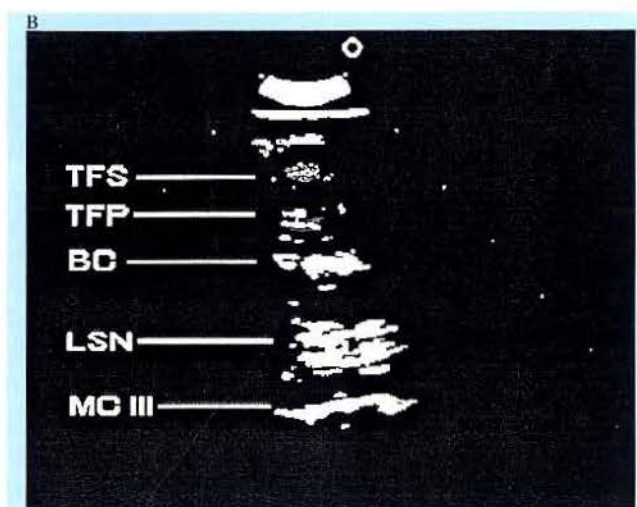


Fig. 9: Zona 2B, sonda sector, scansione trasversale. A: ecografia; B: riproduzione computerizzata. Il TFS si appiattisce e la BC diviene contigua al TFP.

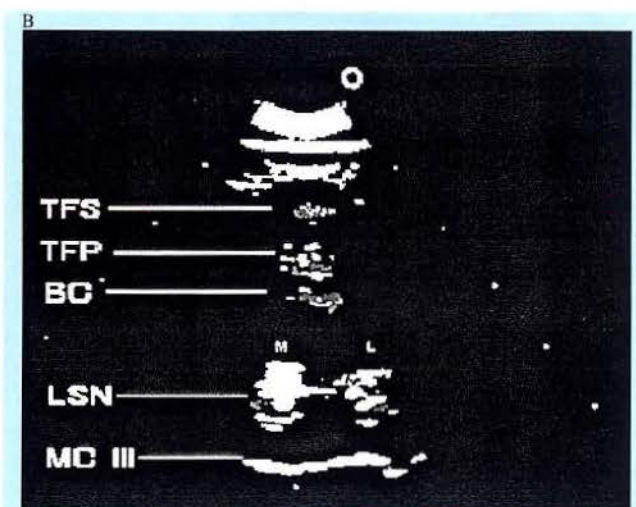


Fig. 10: Zona 3A, sonda sector, scansione trasversale. A: ecografia; B: riproduzione computerizzata. Il TFS assume forma a mezzaluna, BC si fonde con TFP, LSN inizia la divisione nelle briglie mediale (m) e laterale (l).

sione longitudinale del TFS e del TFP in quanto comprende parti relativamente più brevi del primo, e relativamente più lunghe del secondo, mentre, per lo screening e la registrazione fotografica, è assai utile un'immagine che raccolga tratti di queste strutture aventi uguale lunghezza.

Per quanto riguarda la diversa ecogenicità evidenziata in alcuni soggetti, tra la briglia mediale e quella laterale del LSN, riteniamo che tale riscontro sia dipendente dalla frequenza della sonda impiegata e dal

suo posizionamento rispetto alle briglie stesse. Sono poi essenziali la corretta regolazione del guadagno e del contrasto.

CONCLUSIONI

L'esame ecografico è rapido, di facile esecuzione, non presenta rischio biologico né per l'operatore né per il paziente.

In soggetti particolarmente eccitabili si può ricorrere alla sedazione farmacologica per via e.v. o i.m.

In tutti gli animali esaminati sono stati bene identificati gli echi prodotti dai tendini, dai legamenti, dalla superficie volare del MC III e dai vasi di maggior diametro.

Si segnala la semplicità di impiego della sonda sector per le scansioni trasversali, perché meglio della sonda lineare si adatta all'anatomia della parte, in particolare alle zone prossimali e distali della superficie volare del metacarpo. Sonde di frequenza pari a 7.0-7.5 MHz sono le più indicate. Se si devono necessariamente impiegare sonde da 5.0 MHz, è indi-

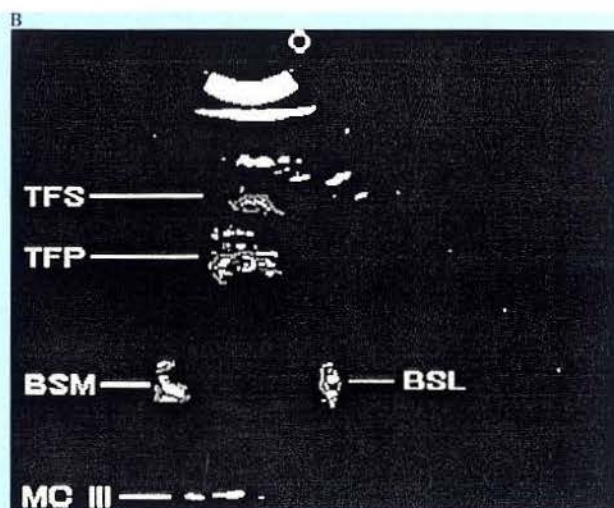


Fig. 11: Zona 3B, sonda sector, scansione trasversale. A: ecografia; B: riproduzione computerizzata. LSN è completamente diviso nella briglia sesamoidea mediale (BSM) e in quella laterale (BSL).

spensabile l'interposizione di un cuscinetto silconico per la corretta focalizzazione del fascio.

La sonda lineare fornisce un'utile valutazione complessiva in scansione longitudinale, in particolare gli echi che pervengono al monitor identificano l'andamento, la definizione, l'integrità delle fibre dei tendini e legamenti, per tratti paralleli eguali.

La sonda sector visualizza superfici più ridotte, ma con maggior accuratezza. Infine, le immagini registrate con sistema Polaroid sono certamente utili in quanto consentono una valutazione immediata del quadro. È qui evidente, a nostro parere, la complementarietà dei due strumenti nell'impiego clinico e nel seguire l'evoluzione di una lesione tendinea e/o desmica, sia acuta che cronica. È ovvio però che la scelta di un solo tipo di sonda sia correlata anche ad esigenze professionali soggettive.

Anche la ripresa fotografica con pellicola a colori è ben leggibile: la dominante cromatica blu sulla quale risultano nettamente in bianco gli echi, per la maggiore sensibilità dell'occhio alla differenze di colore rispetto alle variazioni di tonalità di grigio, rende più agevole e precisa la lettura.

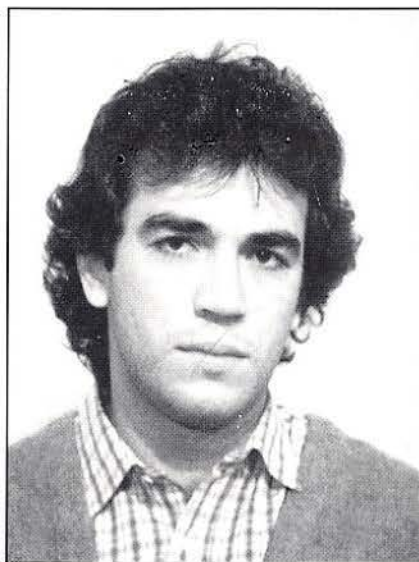
BIBLIOGRAFIA

1. DENOIX J.M.: L'echographie des tendons du cheval. Atti Congresso: L'Echographie, aujourd'hui et demain, 3 juin, 1988.
2. DENOIX J.M., MIALOT M., LEVY I., LAGADIC M.: Etude anatomopatologique des lésions associées aux images échographiques anormales des tendons et ligaments chez le cheval. Rec.Méd.Vét. 166:45-55, 1990.
3. DYSON S.: Proximal suspensory desmitis: clinical, ultrasonographic and radiographic features. Equine Vet.J. 23:25-31, 1991.
4. FEDRIGO M., MUTTINI M., VALENTINI S.: Diagnosi ecografica di alterazioni dei tessuti molli dell'estremità distale dell'arto del cavallo. Atti S.I.D.I. 193-200, 1989.
5. FORNAGE B.D., MATTHEW D.R.: Ultrasound examination of tendons. Rad. Clin. North Am. 26, 1:87-107, 1988.
6. GENOVESE R.L., RANTANEN N.W., HAUSER M.L., SIMPSON B.S.: Diagnostic ultrasonography of the equine limbs. Vet. Clin. North Am. 2, 1:154-226, 1986.
7. GENOVESE R.L., RANTANEN N.W., SIMPSON B.S.: L'impiego dell'ecografia nella diagnosi e nel trattamento delle lesioni degli arti del cavallo. Veterinaria 3, 2:87-98, 1989.
8. GENOVESE R.L., RANTANEN N.W., HAUSER M.L., SIMPSON B.S.: The use of ultrasonography in the diagnosis and management of injuries of the equine limb. Comp. Equine 9, 9:945-955, 1987.
9. HAUSER M.L.: Ultrasonographic appearance and correlative anatomy of soft tissues of the distal extremities in the horse. Vet. Clin. North Am. 2, 1:127-144, 1986.
10. HENRY G.A., PATTON C.S., GOBBLE D.O.: Ultrasonographic evaluation of the iatrogenic injuries of the equine accessory (carpal check ligament and superficial digital flexor tendon. Vet. Rad. 27, 4:132-140, 1986.
11. MUTTINI A., FEDRIGO M.: Studio ecografico di alcune strutture della mano del cavallo. Atti S.I.D.I. 65-76, 1987.
12. PENNICK D.G., NYLAND T.G., O'BRIEN T.R., WHEAT J.D., BERRY C.R.: Ultrasonography of the equine stifle. Vet. Rad. 31,(6):293-298, 1990.
13. PHARR J.W., NYLAND T.G.: Sonography of the equine palmar metacarpal soft tissue. Vet. Rad. 25, 6:265-273, 1984.
14. RANTANEN N.W.: The use of diagnostic ultrasound in limb disorders of the horse: A preliminary report. J. Equine Vet. Sci. 2:62-64, 1982.
15. RANTANEN N.W., GENOVESE R.L., GAINES R.: The use of diagnostic ultrasound to detect structural damage to the soft tissue of the extremity of the horse. J. Equine Vet. Sci. 3:134-135, 1983.
16. SPAULDING K.: Ultrasonic anatomy of the tendons and ligaments in the distal metacarpal-metatarsal region of the equine limb. Vet. Rad. 25, 4:155-166, 1984.
17. SPURLOCK G.H., SPURLOCK S.L., PARKER G.A.: Ultrasonographic, gross, and histologic evaluation of a tendinitis disease model in the horse. Vet. Rad. 30, 3: 184-188, 1989.

Si ringrazia il Col. c. Cigna, Comandante della Scuola Militare di Equitazione, Montelibretti, il Magg. Co. Vet. Reitano, il Cap. Co. Vet. Mellano, il Prof. Sergio Bianco, del Dipartimento di Patologia Animale di Torino ed il sig. Antonio Rizzi, titolare del Computer Shop di Torino per l'assistenza e la consulenza prestate nel corso del lavoro che ha portato alla redazione di questa nota.

Il lavoro spetta in parti eguali agli Autori.

Ricerca svolta con contributo 60% M.U.R.S.T. per l'anno 1989.



(*) Il Dott. Bruno Peirone, nato a Torino il 23.07.1958, si è laureato in Medicina Veterinaria nel 1983. Collaboratore volontario dell'Istituto di Anatomia Patologica della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Torino dal 1983 al 1985, ha discusso, nel 1988, la tesi "Oncogeni e retrovirus oncogeni" nell'ambito del Dottorato di Ricerca sulla Patologia comparata degli animali domestici. Specialista in Ispezione degli alimenti di origine animale, dal 1990 presta servizio, in qualità di Ricercatore, presso il Dipartimento di Patologia Animale dell'Università di Torino.



(**) La Dott.ssa Anna M. Pilone, nata a San Mauro Torinese il 24.01.1952 si è laureata nel 1974 con il massimo dei voti presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino. Nominata Assistente incaricato alla Cattedra di Patologia Chirurgica Veterinaria e Podologia presso la stessa Facoltà è stata successivamente assegnista presso l'Istituto di Radiologia. Quale Ricercatore confermato dal 1981 svolge attività didattico-scientifica.



(***) Il Prof. Luigi Pozzi, nato a Trieste nel 1929, si è laureato con lode nel 1951 ed ha svolto, e svolge, attività di docente a tempo pieno e di ricerca presso la facoltà di Medicina

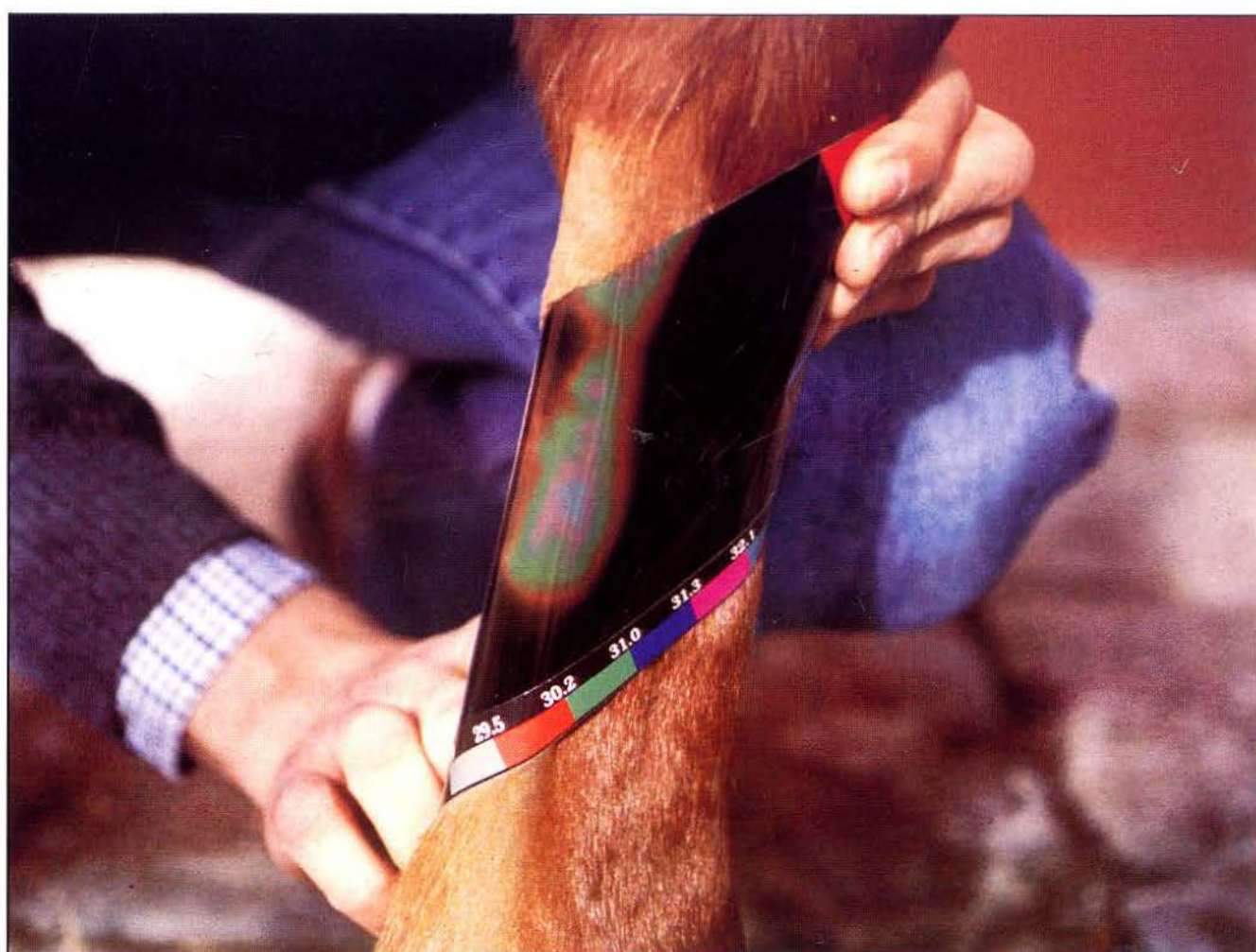
Veterinaria di Torino. Già Ordinario di Medicina Operatoria Veterinaria, Ordinario di Radiologia Veterinaria, Direttore della Scuola di Specializzazione in Radiologia Veterinaria della Università di Torino, Componente del Board of the Directors dell'International Veterinary Radiology Association dal 1988, è autore e co-autore di oltre cento pubblicazioni scientifiche, del "Compendio di Radiologia Clinica Veterinaria", dell'"Atlante di Radiologia Clinica Veterinaria" e di varie monografie scientifiche. Ha curato la versione italiana di testi anglosassoni di radiologia veterinaria ed è collaboratore e consulente scientifico di riviste ed associazioni professionali.



(****) Il Ten. Stefano Nardi, nato a Frascati nel 1966, ha frequentato il 17° Corso dell'Accademia di Sanità Militare Interforze, Corpo Veterinario di Pinerolo. Dal 1988 allievo interno presso l'Istituto di Radiologia dell'Università di Torino, si è laureato a pieni voti nel 1990 ed ha frequentato uno stage formativo presso l'Istituto di Radiologia della Freie Universität di Berlino. Co-autore di pubblicazioni scientifiche riveste attualmente l'incarico di Ufficiale Addetto presso la Scuola di Applicazione D'Arma di Torino.

IMPIEGO DELLA TERMOGRAFIA A CONTATTO NELLA VALUTAZIONE DELLE LESIONI TENDINEE DEL CAVALLO SPORTIVO

P. Puntoni (*), M. Modenato (), S. Tamagna (***),
L. Mellano (****), S. Fallaci (*****), F. Fabiani (*****)**





In alto: Arto ant. sx. lieve tumefazione del terzo medio della regione flessoria dello stinco.

In basso: Arto ant. sx. termografia: area ipertemica (blu) circondata da isoterme di temperatura decrescenti centrifugamente.



INTRODUZIONE

La termografia è una metodica diagnostica non invasiva che permette di registrare i valori termici esistenti in ciascun sito della superficie corporea per poi riprodurre un'immagine rappresentativa, la "mappa termica" cutanea.

Esistono due diversi tipi di indagine termografica: la teletermografia e la termografia a contatto. La prima sfrutta la naturale emissione di radiazioni infrarosse dalla cute; la seconda, oggetto di questa pubblicazione, utilizza il calore scambiato all'esterno per conduzione e convezione.

Le sostanze termosensibili poste a contatto della cute sono esteri di colesterolo in soluzione oleosa. La fase colesterica della materia (detta anche fase di cristalli liquidi o "mesofase" fra lo stato di aggregati solidi cristallini e fluidi) ha la facoltà di riflettere la luce bianca incidente in determinate lunghezze d'onda, in funzione della propria temperatura.

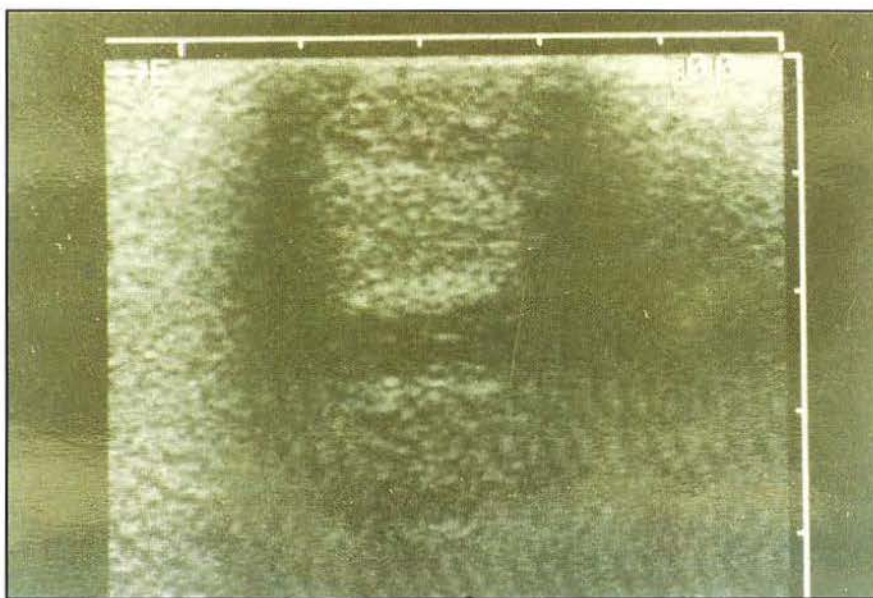
Le molecole dei cristalli liquidi colesterici (i CLC) si dispongono in vari strati sovrapposti l'uno all'altro, ciascuno dei quali ha il suo asse maggiore ruotato di circa 150° rispetto al sovrastante, a formare un'elica. Il passo di quest'elica si allunga quando la temperatura si abbassa, si accorcia viceversa quando la temperatura sale. La luce bianca incidente, colpendo i CLC, si divide in due componenti, una di trasmissione ed una di riflessione. Quest'ultima rappresenta solo una parte della luce bianca incidente, ed è caratterizzata da uno dei colori dello spettro visibile in rapporto alla propria lunghezza d'onda (λ). La lunghezza d'onda è, a sua volta, in rapporto di diretta proporzionalità con il passo dell'elica formata dai vari strati di CLC: con passo ristretto (alta temperatura) si hanno valori piccoli di λ e colore blu; con passo allungato (bassa temperatura) valori

elevati di λ (colori giallo e verde). I CLC sono incorporati in piccolissime sferule disposte su di un supporto plastico altamente flessibile, la "bandella" termosensibile. La bandella, posta sulla superficie corporea, genera un'immagine policroma scomponendo la luce bianca incidente, dando così un'indicazione indiretta della temperatura di ciascuna area del corpo in funzione del colore riflesso. Per ovviare alla limitata estensione della bandella, viene fornito dai produttori un set composto da un numero variabile di esse, ciascuna tarata per un diverso intervallo termico. Deve essere scelta la bandella giusta, quella tarata per la temperatura dell'area oggetto di esame e che permette di ottenere un'immagine policroma completa in tutti i colori della scala cromatica riportata sulla bandella stessa.

La bandella si presenta di colore nero prima della sua applicazione e torna ad essere nera qualche secondo dopo questa, pronta per l'uso successivo. La rappresentazione oggettiva e durevole nel tempo del termogramma si ottiene con la ripresa fotografica a colori.

Per la lettura del termogramma bisogna fare riferimento all'iconografia policroma che appare sulla bandella termosensibile. La linea di demarcazione tra due colori contigui corrisponde ad un'esatta temperatura, ed è detta linea "isotermica". L'area compresa tra due linee isotermiche ha un colore proprio, che corrisponde ad un intervallo termico caratteristico, più o meno ampio a seconda del sistema di rilevamento ed indicata dalla scala termometrica di riferimento.

Il calore è uno dei segni evidenti della flogosi e può essere evidenziato con l'impiego della termografia. Stromberg ha per primo descritto le variazioni della mappa termica cutanea ottenuta con la teletermografia in cavalli affetti da tendiniti. I casi acuti sono caratterizzati per lo più da punti di calore (hot spots). L'aumento di



In alto: Arto ant. sx. ecografia in sezione trasversale; area ipoecoica nella struttura del perforato.

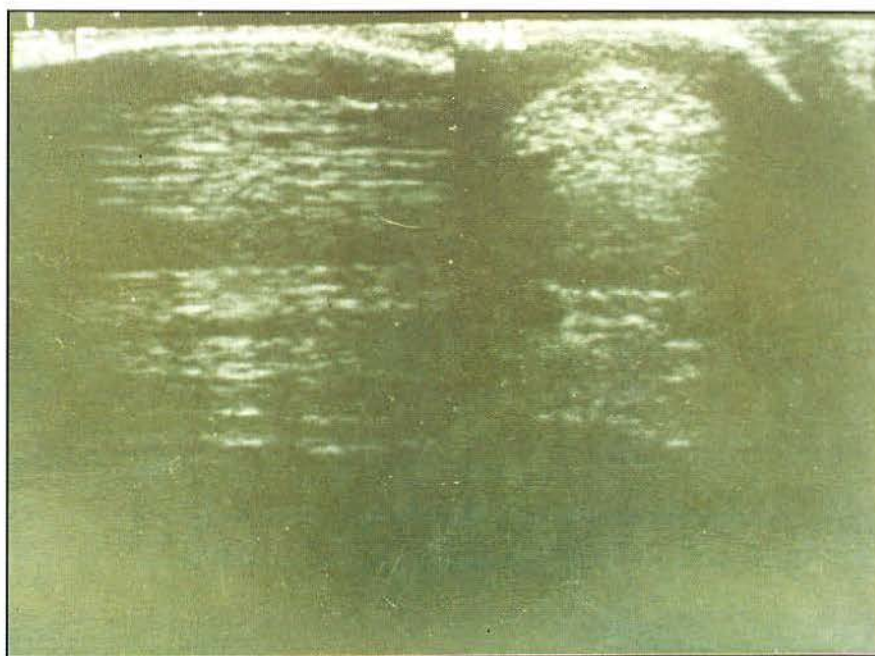
In basso: Arto ant. dx. tumefazione a livello del terzo prossimale della regione dei tendini.





In alto: Arto ant. dx. termografia; area ipertermica di colore verde.

In basso: Arto ant. dx. longitudinale (a sx.) e trasversale a (dx); area ipoecoica superficiale del tendine perforato.



temperatura è particolarmente evidente per le lesioni del flessore superficiale ed è in relazione con la gravità della lesione.

Nelle forme croniche, si possono avere due possibili eventualità: la regione lesa mostra una temperatura uguale o leggermente superiore rispetto alla controlaterale, oppure mostra una temperatura inferiore (cold spot). Stromberg ha constatato che le cicatrici con temperatura inferiore al normale sono oggetto di frequenti recidive, mentre le altre sono più solidamente consolidate. La qualità della cicatrizzazione, in sintesi, è in rapporto con la neovascolarizzazione.

La termografia a contatto è stata per la prima volta impiegata nella clinica veterinaria in Ungheria nel 1977. Lalik et al. applicarono questa metodica allo studio di 960 casi (tra cavalli, bovini e cani) trovandola una tecnica innocua e relativamente facile da usare. La casistica concerne prevalentemente lesioni articolari, podali e tendinee. Successivamente sono apparsi i contributi di Bellucci et al. che hanno evidenziato la sua utilità nella diagnostica delle lesioni tendinee ed articolari (e nella valutazione della positività della terapia), e di Garini che l'ha impiegata nello studio delle patologie delle grosse masse muscolari e delle porzioni distali degli arti.

MATERIALI E METODI

Per il presente studio sono stati esaminati 25 cavalli, di razze, età ed attitudini diverse, sottoposti alla nostra osservazione per la presenza di alterazioni patologiche al tendine flessore superficiale, al flessore profondo ed al legamento sospensore del nodello.

L'esame termografico è stato preceduto da un'accurata visita ispettivo-palpatoria e dalla raccolta anamnestica, quando possibile.

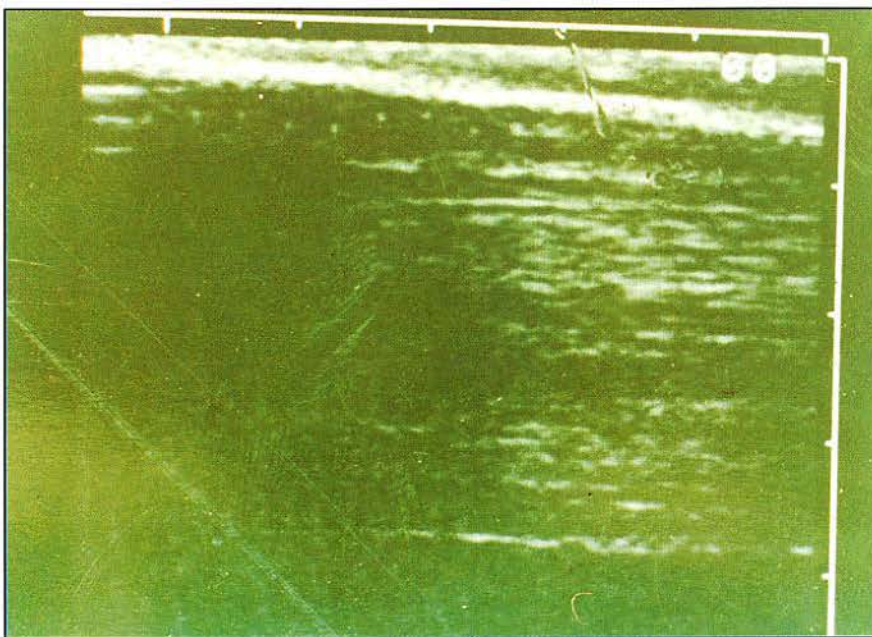
È stato utilizzato, per la termografia, un corredo completo di cinque bandelle termografiche a contatto di formato 220x90 mm, distribuite dalla ditta Sanimed di S. Sisto (PG), in dotazione alla Cattedra di Clinica Chirurgica Veterinaria dell'Università di Pisa, capace di coprire un intervallo termico compreso tra 27,9°C e 36°C, suddiviso in 35 isoterme (sette per bandella) secondo la tabella a fianco.

L'indagine termografica è stata effettuata in luoghi coperti e luminosi, al riparo da correnti d'aria e, possibilmente, dall'esposizione diretta ai raggi solari. L'applicazione delle bandelle sulla cute della sottoregione dei tendini dell'arto anteriore è stata eseguita direttamente o previa tricotomia, qualora il proprietario lo avesse permesso. Prima dell'esame, abbiamo lasciato trascorrere il tempo necessario per ripristinare la temperatura preesistente alla palpazione ed alla detersione del soggetto.

La documentazione fotografica è stata eseguita utilizzando comuni pellicole per diapositive a colori.

Successivamente all'esame termografico è stato anche compiuto un esame ecografico per verificare la reale esistenza ed il tipo dell'eventuale lesione.

1 Σ	27.9	28.3	29.0	29.8	30.2	31.1	31.8
2 Σ	29.0	29.5	30.2	31.0	31.3	32.1	32.9
3 Σ	30.0	30.4	31.3	32.1	32.3	33.1	33.9
4 Σ	30.9	31.3	32.2	32.9	33.2	34.2	34.9
5 Σ	31.6	32.1	32.9	33.7	34.2	35.1	36.0



Arto ant. dx. ecografia in sezione longitudinale: area ipoecogena nel tendine flessore superficiale.

RISULTATI

Come è già stato accennato, l'esame termografico a contatto è stato preceduto da un'accurata visita ispettivo-palpatoria della sottoregione dei tendini degli arti anteriori. L'interessamento più o meno marcato della zona risultava già evidente all'esame clinico.

La termografia ha permesso in alcuni casi di evidenziare lesioni a carico delle strutture tendineo-legamentose più superficiali.

Le teniti acute si sono manifestate principalmente come punti di calore (hot spots) più o meno evidenti a

seconda della gravità e dell'estensione delle lesioni. Le forme croniche, invece, hanno presentato un quadro più vario. Alcune, infatti, hanno mostrato una mappa termica caratterizzata principalmente da ipotermia (cold spot), altre hanno evidenziato aree ipertemiche del tutto sovrapponibili a quelle delle lesioni acute.

Tra i casi che siamo riusciti a documentare fotograficamente, abbiamo scelto alcuni dei più significativi, cui abbiamo unito l'esame ecografico per poter confrontare la lesione termografica con quella ecografica.

Caso n. 1: cavallo mezzosangue, maschio, anni 19.

All'esame ispettivo mostra un notevole ingrossamento della regione dei tendini dell'arto anteriore sx. (Fig. 1). L'anamnesi rivela che la lesione è insorta circa 20 giorni prima e che il trattamento locale con infiltrazione di cortisonici ha portato ad una parziale regressione della sintomatologia. La palpazione non evidenzia calore, né reazioni antalgiche del soggetto; rivela altresì una tumefazione localizzata, di scarsa evidenza, a carico del tendine flessore superficiale nel terzo medio della regione dei tendini.



Arto ant. sx.: evidente aumento di volume della regione dei tendini.

L'esame termografico, eseguito dopo tricotomia con la bandella 2, mostra una zona nettamente ipertermica a livello della tumefazione rilevata. L'area ipertermica, di colore blu, appare di forma vagamente ovalare, circondata da isoterme concentriche di temperature decrescenti in senso centrifugo (Figg. 2, 3).

Caso n. 2: cavallo mezzosangue, maschio, anni 12.

All'esame ispettivo palpatorio l'arto anteriore dx presenta un'evidente tumefazione postero-mediale a livello del terzo prossimale della regione dei tendini (Fig. 4). La visita clinica non evidenzia né calore né dolore, anche ad una palpazione energica.

L'esame termografico viene eseguito direttamente, senza tricotomia, utilizzando la bandella 1, più sensibile, a causa della bassa temperatura ambientale. La porzione centrale della bandella, posta a livello della tumefazione, evidenzia un'area ovale verde, nettamente ipertermica rispetto alle altre, che sono rimaste di colore nero (Figg. 5, 6, 7).

Caso n. 3: cavallo mezzosangue, femmina, anni 20.

La regione dei tendini dell'arto anteriore sx. si presenta aumentata di volume in maniera pressoché uniforme ed evidente all'esame ispettivo (Fig. 8). La palpazione permette di apprezzare calore solo nel terzo distale, mentre appare impossibile differenziare il perforante dal perforato anche flettendo il nodello.

L'esame termografico eseguito con la bandella 2, rivela un quadro caratterizzato da aree ipertermiche prevalenti, inframmezzate da piccole zone più calde. In particolar modo appare evidente un punto di calore tra terzo medio e distale, visibilmente blu (Figg. 9, 10, 11).



Caso n. 4: cavallo PSI, maschio, anni 4.

L'anamnesi rivela che al ritorno da un lavoro normale, il cavallo ha presentato una leggera tumefazione al terzo distale dello stinco ed al nodello dell'arto anteriore dx. La tumefazione ha continuato ad aumentare di volume nei giorni seguenti, malgrado il soggetto fosse tenuto a riposo in box (Fig. 12).

L'esame ispettivo rivela un ingrossamento marcato del terzo distale della regione dei tendini dal lato mediale ed al nodello; la palpazione scopre una zona più calda a livello della parte terminale della branca mediale

del legamento sospensore del nodello. L'esame termografico, eseguito con bandella 2, mostra chiaramente un'area ipertermica blu circolare, a livello della branca del sospensore in questione (Fig. 13).

Caso n. 5: cavallo mezzosangue, femmina, anni 9.

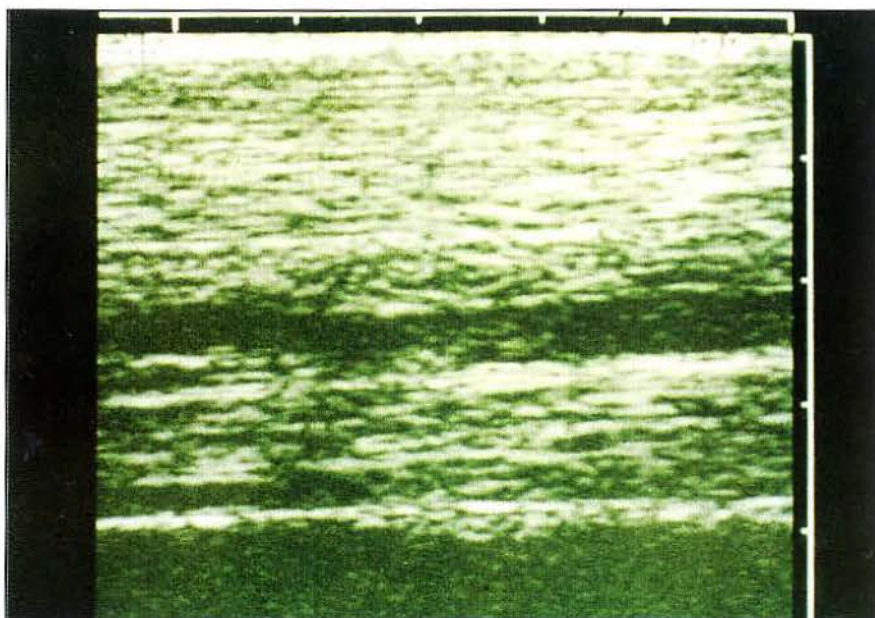
Il soggetto in questione mostra chiari segni di zoppia da circa sette giorni. All'esame ispettivo l'arto non mostra alcun rilievo evidente; la palpazione rivela una leggerissima tumefazione tra terzo medio e terzo distale della sottoregione dei tendini. La termografia, eseguita direttamente senza tricotomia, utilizzando una bandella 5, evidenzia un'area ipertermica di

Arto ant. sx.: termografia; aree ipotermiche prevalenti e zone ipertermiche (blu).

colore verde a livello della leggera tumefazione individuata alla palpazione.

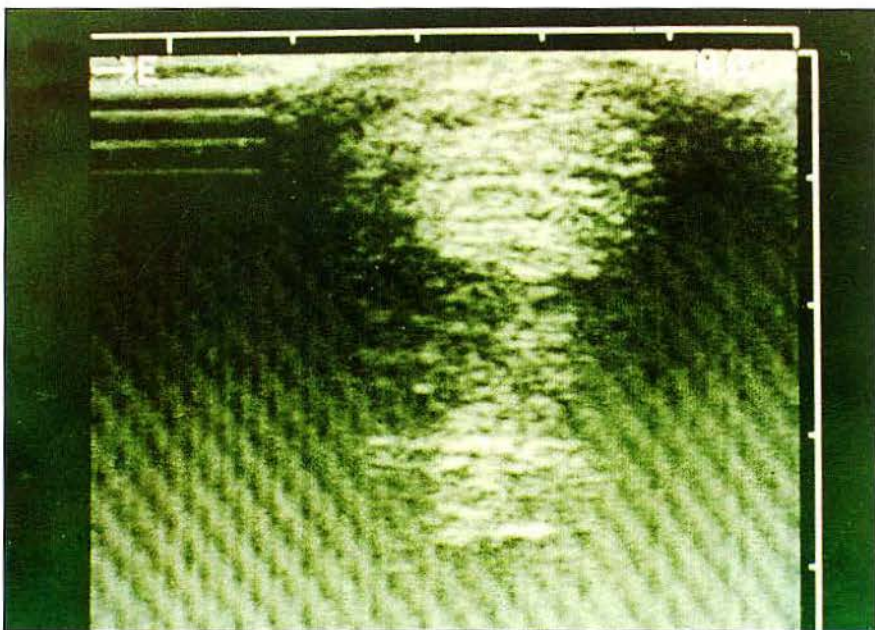
Caso n. 6: cavallo mezzosangue, maschio, anni 7.

L'anamnesi rivela l'esistenza di una pregressa lesione a carico del tendine flessore superficiale che è stata trattata con cortisonici e riposo in box per un mese e mezzo. Successivamente il cavallo ha cominciato nuovamente a lavorare, ma dopo pochi giorni ha mostrato nuovamente segni di zoppia ed è stato conseguentemente fermato.



In alto: Arto ant. sx. ecografia longitudinale: indifferenziazione del piano di clivaggio tra i tendini flessori.

In basso: Arto ant. sx. ecografia trasversale tra il terzo medio e distale dello stinco; area ipococica nel tendine perforato.



L'esame ispettivo palpatorio mostra un evidente rigonfiamento della superficie volare dello stinco a livello del terzo medio e distale.

L'esame termografico, eseguito con bandella 3, mostra una zona ovale evidentemente ipertermica (blu) nel contesto di un'area a temperatura più bassa. L'area blu è riferibile probabilmente ad un fenomeno di riaccutizza-

zione della lesione a carico del tendine perforato.

Caso n. 7: cavallo mezzosangue, maschio, anni 5.

L'esame ispettivo-palpatorio della sottoregione dei tendini dell'arto anteriore sx. mostra un'evidente tumefazione fredda a livello del lato mediale del terzo medio.

L'esame termografico, eseguito senza tricotomia utilizzando la bandella 3, evidenzia chiaramente come la temperatura della superficie in rilievo sia inferiore rispetto alle zone circostanti: l'area appare di colore verde, nettamente differenziata dal blu intenso circostante. La differente intensità del calore di fondo nei due termogrammi è riferibile a variazioni di ventilazione dell'ambiente esterno.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'impiego "in campo" della termografia a cristalli liquidi colesterici ha comportato non pochi problemi. La maggior parte di questi è relativa all'impossibilità di procedere all'esame in ambienti climatizzati. L'influenza delle condizioni ambientali si è rivelata infatti maggiore del previsto, addirittura, in taluni giorni invernali particolarmente freddi, è stato impossibile effettuare le indagini.

Basse temperature, ventilazione ed esposizione diretta ai raggi solari rappresentano gli ostacoli più grossi per l'esame in questione. La bassa temperatura comporta vasocostrizione superficiale e minore reattività della bandella. La ventilazione dissipa il calore superficiale: basta un leggero venticello improvviso per ridisegnare completamente la mappa termica che appare sulla bandella o per farla tornare addirittura nera. L'esposizione diretta alla luce solare comporta un riscaldamento sia del corpo che della bandella, che non di rado assume una colorazione blu uniforme, rendendo impossibile l'esame.

Per limitare al minimo le influenze esterne abbiamo cercato di effettuare gli esami al coperto, al riparo da correnti d'aria e dai raggi solari; tutto ciò è però spesso risultato impossibile o incompatibile con le esigenze di documentazione fotografica.

Molta cura deve essere usata al momento dell'applicazione delle



Arto ant. dx. ingrossamento marcato del nodello.

bandelle. Abbiamo constatato, infatti, quanto sia difficile applicare le bandelle sulla cute del soggetto in modo tale da esercitare una pressione uniforme ed ottenere un'aderenza totale, malgrado la loro notevole flessibilità. La differenza di pressione esercitata può alterare il risultato dell'indagine: abbiamo, infatti, alcune zone che si presentano ipotermiche per l'interposizione di un cuscinetto d'aria conseguentemente alla mancata aderenza, altre in cui l'aderenza è quella giusta e, infine, altre

ancora in cui la pressione applicata è troppo elevata. Il risultato di un'eccessiva pressione è lo schiacciamento dei vasi più superficiali e l'alterazione del calore di fondo della mappa termica.

Fasce e bendaggi devono essere rimossi almeno un quarto d'ora prima dell'effettuazione dell'indagine, per permettere il ripristino della temperatura preesistente.

Molte difficoltà sono state incontrate anche nel tentativo di documentare fotograficamente i risultati dei nostri esami, e questo è il motivo dell'assenza delle foto dei casi 5, 6 e

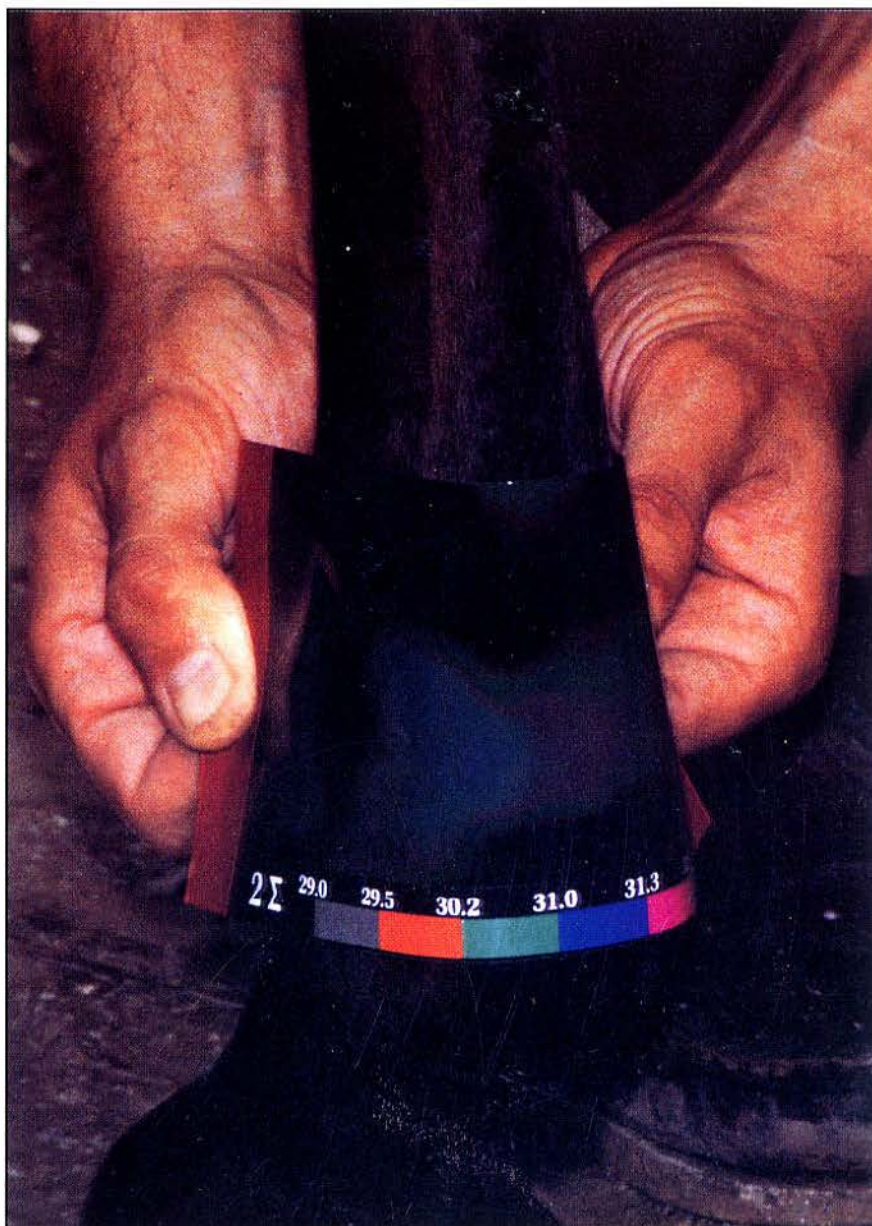
7. I problemi sono legati principalmente alla natura del materiale plastico altamente riflettente di cui sono costituite le bandelle termosensibili.

Le bandelle infatti, adattate su di una superficie curva, generano una quantità notevole di riflessi che rendono improbo il tentativo di ottenere una valida iconografia. Abbiamo provato ad applicare un filtro polarizzatore alla macchina fotografica, ma i risultati non sono stati quelli sperati. Le migliori immagini si ottengono quando le bandelle vengono illuminate direttamente dalla luce solare; ma questo, come già riferito, è incompatibile con la veridicità dell'esame. Abbiamo però ovviato a questo inconveniente lasciando che i raggi solari illuminassero le bandelle solo un istante prima dello scatto.

Nonostante questi ostacoli, siamo riusciti ad evidenziare talune lesioni delle strutture tendineo-legamentose dello stinco. È però possibile mettere in evidenza solo lesioni a carico delle strutture più superficiali: tendine perforato, porzione mediale e laterale del perforante, branche del legamento sospenditore del nodello; negativo è stato il risultato delle nostre indagini in caso di patologie delle briglie e delle altre porzioni teno-desmiche profonde.

Il tendine che meglio si presta all'esame termografico a contatto è risultato essere il flessore superficiale delle falangi, specialmente in corso di tendinite acuta.

Le forme acute si manifestano con punti di calore (hot spot) evidenti e ben delimitati, più o meno grandi a seconda della gravità delle lesioni, della loro estensione e della loro superficialità. L'immagine termografica delle patologie a carattere cronico è invece di più difficile interpretazione per la presenza di quadri diversi, e spesso anche dubbi. In relazione al tempo trascorso dall'insorgenza della flogosi, nonché alla presenza o meno di un fenomeno riparativo cica-



Arto ant. dx. termografia: (blu) a livello della branca mediale dell'interosseo.

triziale, si evidenziano come hot spot o con zone, anche estese, di relativa ipotermia.

La termografia a contatto, in sintesi, non può esistere come metodica diagnostica autosufficiente. Anche nei casi in cui le bandelle hanno permesso di evidenziare lesioni tendinee, non hanno fornito che indicazioni approssimative in merito alla loro esatta ubicazione, estensione e gravità.

Tutte queste considerazioni, unitamente al costo non indifferente delle bandelle, lasciano molti dubbi sulla loro effettiva utilità come ausilio diagnostico; ma la loro efficacia nell'individuazione di lesioni acute a carico delle strutture superficiali ha lasciato intravedere la possibilità del loro impiego come esame routinario dopo prestazioni sportive o allenamenti pesanti, specialmente per i cavalli galoppatori ed i saltatori. Questi animali, infatti, sono più soggetti a patologie del flessore superficiale e dell'interosseo, di-

versamente dai trottori che mostrano più frequentemente tenodesmiti del flessore profondo e della briglia carpica.

Si auspica quindi una maggiore attenzione degli Autori in merito a questa possibile utilizzazione, considerando anche che l'innocuità del metodo ne permette l'impiego ripetuto.

BIBLIOGRAFIA

ADAMS O.R. Le malattie degli arti del cavallo e problemi di ferratura. Ed. Edagricole 1975

ASHDOWN R.R., DONE S.H. Atlante di anatomia veterinaria. Vol. 2: Il cavallo. Ed. USES 1987

BARONE R. Anatomia comparata dei mammiferi domestici. Vol. 2: artrologia e miologia. Ed. Edagricole 1976

BELLUCCI M., DI MEO A., MORICONI F., BELLEZZA E. Applicazioni della termografia a contatto nella diagnostica delle lesioni tendinee nel cavallo. Atti SISVET vol. 42 parte 2 p. 1439-41

BOWMAN K.F., PUROHIT R.C., GANJAM V.K., Pechman R.D. Jr., Vaughan J.T. Thermographic evaluation of corticosteroid efficacy in amphotericin B-induced arthritis in ponies. Am. Journal of Vet. Res. (1983) 44 (1) 51-56

CHELI R. Clinica chirurgica veterinaria. Terza edizione. Ed. UTET 1988

CLARK J.A., CENA K. The potential of infra-red thermography in veterinary diagnosis. Vet. Record (1977) 100 (19) 402-404

CORINALDESI A., TOTI A., Roversi R. Diagnostica per immagini. Ed. Esculapio, 1984

COULON J., CAZIEUX A., SOUBAGNE M., La temperature des tendons chez le cheval de course. Revue Med. Vet. 1969, 120, 31-37

COULON J. Thermometrie-thermographie. Pratique Veterinaire Equine (1976) 8 (4) 145-148

DELAHANTY D.D., GEORGI J.R. Thermography in equine medicine. *Jou. of the Am. Vet. Med. Ass.* 147: 235-238, 1965

DEL BUE M., BOTTI P. Patologia e terapia delle tenodesmiti. *Atti VIII Congr. naz. S.I.D.I.* 1987, 145-165

Enciclopedia Medica Italiana, seconda edizione, Ed. USES, 1978

FORAPANI S., GRINZATO E., MAZZOLI A. Metodologie termografiche compute-

rizzate applicate alla patologia degli arti del cavallo. *Atti VIII Congr. naz. S.I.D.I.* 1987, 95-103

GARINI L.C. La termografia. *Il mio cavallo*: 4, 26-29

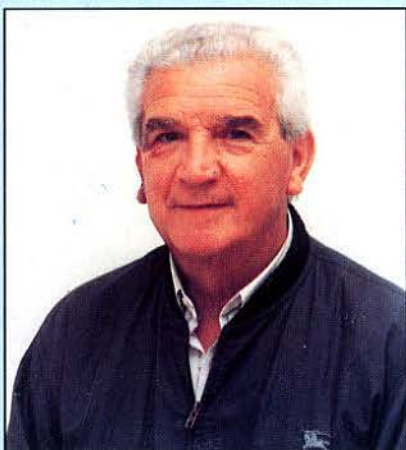
LELIK F., KEZY G., SOLYMOSSY O., OLECY Z. Use of liquid crystals in cutaneous thermography. *Veterinaria*, 1980, feb. 2: 64-65

LELIK F., KEZY G., SOLYMOSSY O. The diagnosis of locomotive disorders of

domestic animals by contact thermography. *Acta Therm.* 2, 1, 13-17, 1977

NELSON H.A., OSHEIM D.L. Soring in Tennessee walking horses: detection by thermography. *USDA-APHIS, Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa*, 1-14, 1975

PALMER S.E. Use of the portable infrared thermometer in equine practice. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners* (1980) 26, 327-333



(*) Il Prof. Piero Puntoni, ordinario di clinica chirurgica veterinaria presso l'Università degli studi di Pisa, è nato a Pisa nel 1924, ove si è laureato in medicina veterinaria nel 1948. Assistente incaricato (1948) e ordinario (1950) presso l'Istituto di patologia speciale e clinica chirurgica, diretto dai proff. Galli e Salerno, conseguì la libera docenza in patologia speciale e clinica chirurgica nel 1958.

Dal 1954 ha ricoperto, presso la facoltà di medicina veterinaria di Pisa, l'incarico degli insegnamenti di podologia, anatomia topografica e chirurgia operativa, zoognostica, anatomia topografica ed attualmente quello di radiologia.

Professore straordinario nel 1971, passò nel 1974, ordinario di anatomia topografica e chirurgia operativa, di medicina operatoria nel 1979 e di clinica chirurgica nel 1986.

Fa parte del corpo docente della scuola di specializzazione in malat-

tie dei piccoli animali della facoltà di medicina veterinaria e del corpo docente della scuola di specializzazione in ortopedia e traumatologia della facoltà di medicina dell'Università degli studi di Pisa.

È responsabile del day hospital per cavalli "G. Fogliata", operante presso l'ippodromo di S. Rossore in Pisa. È socio onorario della società italiana di ippologia.

È autore di n. 112 pubblicazioni e di due libri.



(**) Il Dott. Mario Moderato, nato a Genova nel 1960, si è laureato in medicina veterinaria a Pisa nel 1984. Vincitore del concorso per l'ammissione all'82° corso A.U.C. del Corpo Veterinario Militare, ha frequentato il suddetto corso presso la scuola del corpo veterinario a Pinerolo e ha prestato servizio come sottotenente veterinario presso il centro militare di allevamento e rifornimento quadrupedi di Grosseto.

Vincitore del concorso per titoli per la rafferma biennale di 1° Ufficiale di Complemento, ha prestato il servizio presso il suddetto centro per un anno fino al proscioglimento volontario della ferma.

Specializzato in malattie dei piccoli animali nel 1988 presso l'università di Pisa.

Vincitore del concorso per esami per il dottorato di ricerca in "Patologia e clinica degli organi di movimento degli animali domestici", sta svolgendo attività di ricerca in qualità di dottorando presso la cattedra di clinica chirurgica dell'Università di Pisa.

È autore di n. 35 pubblicazioni scientifiche.



(***) Il Magg. vet. Silvano Tamagna ha conseguito la laurea con lode nel 1979 a Parma. Tenente dal 1981 ha svolto l'incarico di Dirigente del Servizio Veterinario presso il Reggimento Artiglieria a Cavallo di Mila-

PUROHIT R.C., Mc Coy M.D., Bergfeld W.A. Thermographic diagnosis of Horner's syndrome in the horse. Am. Jou. of Vet Res. vol 41, n. 8, p. 1180-1182

PUROHIT R.C., MC COY M.D. Thermography in the diagnosis of inflammatory processes in the horse. Am. Jou. of Vet. res. vol. 41, n. 8, p. 1167-1174

SMITH W.M. Application of thermography in veterinary medicine. Ann. N.Y. Acad. Sci. 121: 248-254, 1964

STASHAK T.S. ADAMS, La zoppicatura nei cavalli. Ed. SBM, 1990

STEIN L.E., PIJANOWSKY G.J., JOHN-SON A.L., MC COY M.D., CHATO J.C. A comparison of steady state and transient thermography techniques using a healing

tendon model. Vet. Surgery, 17, 2, 90-96, 1988

STEIN L.E., PIJANOWSKY G.J., JOHN-SON A.L. Thermographic evaluation of tendon healing. Anatomia, Histologia, Embryologia (1985) 14 (1) 93

STRÖMBERG B., Thermography in veteri-nary medicine. Bibliotheca Radiologica 1975, 6: 231-236

STRÖMBERG B., Thermography of the superficial flexor tendon in race horses. Acta Radiologica (suppl.) 319: 295-297, 1972

TURNER T.A., FESSLER J.F., LAMP M., PEARCE J.A., GEDDES L.A. Thermo-graphic evaluation of horses with podotro-chlosis. Am. Jou. of Vet. Res., vol. 44, n. 4,

p. 535-539

TURNER T.A., PUROHIT R.C., FESSLER J.F. Thermography: a review in equine medicine. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian (1986) 8 (11) 855-861

TURNER T.A., SCOGGINS R.D., Ther-mographic detection of gingering in horses; Journal of Equine Veterinary Science (1985) 5 (1) 8-10

VADEN M.F., PURHIT R.C., MC COY M.D., VAUGHAN J.T., Thermography: a technique for subclinical diagnosis of osteoarthritis. Am. Jou. of Vet. res. vol. 41, n. 8, p. 1175-1179

ZIMMERL U., Anatomia topografica vete-rinaria. Ed. Vallardi 1980

no e di Segretario presso il Centro Militare di Allevamento e Rifornimento Quadrupedi di Grosseto.

Attualmente riveste l'incarico di Dirigente del Servizio Veterinario presso il predetto Ente.

Specializzato in "Malattie dei piccoli animali" ha frequentato corsi di clinica chirurgica ed ha conseguito il diploma di classificatore di carcasse bovine.

È autore di pubblicazioni scientifiche riguardanti prevalentemente la ginecologia equina.



(****) Il Cap. vet. Luigi Mellano ha conseguito la Laurea in Medicina Veterinaria nel 1985 a Perugia e, nello stesso anno, l'abilitazione all'e-

sercizio professionale.

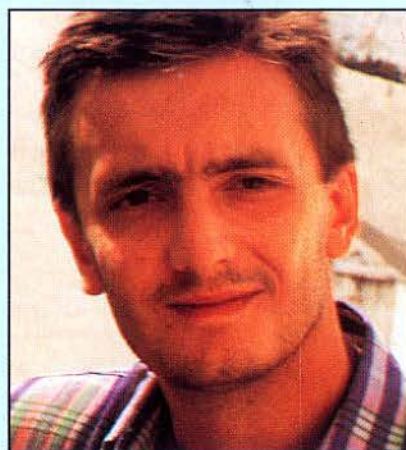
Ha frequentato l'85° Corso A.U.C.V. ed è stato nominato Tenente in s.p.e. nel 1987.

Dal 1986 ha ricoperto l'incarico di Ufficiale addetto al Servizio Veterinario della Scuola Militare di Equitazione.

Attualmente è Dirigente del Servizio Veterinario dello stesso Ente.



(*****) Il Dott. Simone Fallaci si è laureato in Medicina Veterinaria nel 1991 con una tesi su "L'impiego della termografia nella diagnostica delle tenopatie del cavallo atleta". Attualmente svolge attività professionale nel settore ippiatrico.



(*****) Il Dott. Fernando Fabiani si è laureato in Medicina Veterinaria a Pisa nel 1991, discutendo la tesi "Il ruolo dell'ecografia nella valutazione del ripristino morfo-funzionale in corso di tenopatie nel cavallo sportivo", ed è stato allievo interno all'istituto di Clinica Chirurgica della stessa Facoltà dal 1991.

Negli anni 1989-1990 ha partecipato a due corsi integrativi trimestrali di Clinica Chirurgica sul cavallo atleta. Attualmente è veterinario incaricato dal Jockey Club per operazioni antidoping all'ippodromo di San Rossore di Pisa e dall'E.N.C.I. per il riconoscimento dei puledri.

**LEGGE 14 AGOSTO 1991,
N. 281.**

Legge Quadro in materia di animali di affezione e prevenzione del randagismo.

Articolo 1

Principi generali

1. Lo Stato promuove e disciplina la tutela degli animali di affezione, condanna gli atti di crudeltà contro di essi, i maltrattamenti ed il loro abbandono, al fine di favorire la corretta convivenza tra uomo e animale e di tutelare la salute pubblica e l'ambiente.

Articolo 2

Trattamento dei cani e di altri animali di affezione

1. Il controllo della popolazione dei cani e dei gatti mediante la limitazione delle nascite viene effettuato, tenuto conto del progresso scientifico, presso i servizi veterinari delle unità sanitarie locali. I proprietari o i detentori possono ricorrere a proprie spese agli ambulatori veterinari autorizzati dalle società cinofile, delle società protettrici degli animali e di privati.

2. I cani vaganti ritrovati, catturati o comunque ricoverati presso le strutture di cui al comma 1 dell'art. 4, non possono essere soppressi.

3. I cani catturati o comunque provenienti dalle strutture di cui al comma 1 dell'art. 4, non possono essere destinati alla sperimentazione.

4. I cani vaganti catturati, regolarmente tatuati, sono restituiti al proprietario o al detentore.

5. I cani vaganti non tatuati catturati, nonché i cani ospitati pres-



so le strutture di cui al comma 1 dell'art. 4, devono essere tatuati; se non reclamati entro il termine di sessanta giorni possono essere ceduti a privati che diano garanzie di buon trattamento o ad associazioni protezioniste, previo trattamento profilattico contro la rabbia, l'echinococcosi e altre malattie trasmissibili.

6. I cani ricoverati nelle strutture di cui al comma 1 dell'art. 4, fatto salvo quanto previsto dagli articoli 86, 87 e 91 del regolamento di poli-

zia veterinaria approvato con decreto del Presidente della Repubblica 8 febbraio 1954, n. 320 e successive modificazioni, possono essere soppressi, in modo esclusivamente eutanasico, ad opera di medici veterinari, soltanto se gravemente malati, incurabili o di comprovata pericolosità.

7. È vietato a chiunque maltrattare i gatti che vivono in libertà.

8. I gatti che vivono in libertà sono sterilizzati dall'autorità sanitaria competente per territorio e riammessi nel loro gruppo.

9. I gatti in libertà possono essere soppressi soltanto se gravemente malati o incurabili.

10. Gli enti e le associazioni protezioniste possono, d'intesa con le unità sanitarie locali, avere in gestione le colonie di gatti che vivono in libertà, assicurandone la cura della salute e le condizioni di sopravvivenza.

11. Gli enti e le associazioni protezioniste possono gestire le strutture di cui al comma 1 dell'art. 4, sotto il controllo sanitario dei servizi veterinari dell'unità sanitaria locale.

12. Le strutture di cui al comma 1 dell'art. 4 possono tenere in custodia a pagamento cani di proprietà e garantiscono il servizio di pronto soccorso.

Articolo 3

Competenze delle regioni

1. Le regioni disciplinano con propria legge, entro sei mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge, l'istituzione dell'anagrafe canina presso i comuni o le unità sanitarie locali, nonché le modalità per l'iscrizione a tale anagrafe e per il rilascio al proprietario o al detentore della sigla di riconoscimento del cane, da imprimeri mediante tatuag-

gio indolore.

2. Le regioni provvedono a determinare, con propria legge, entro sei mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge, i criteri per il risanamento dei canili comunali e la costruzione dei rifugi per i cani. Tali strutture devono garantire buone condizioni di vita per i cani e il rispetto delle norme igienico-sanitarie e sono sottoposte al controllo sanitario dei servizi veterinari delle unità sanitarie locali. La legge regionale determina altresì i criteri e le modalità per il riparto tra i comuni dei contributi per la realizzazione degli interventi di loro competenza.

3. Le regioni adottano, entro sei mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge, sentite le associazioni animaliste, protezioniste e venatorie, che operano in ambito regionale, un programma di prevenzione del randagismo.

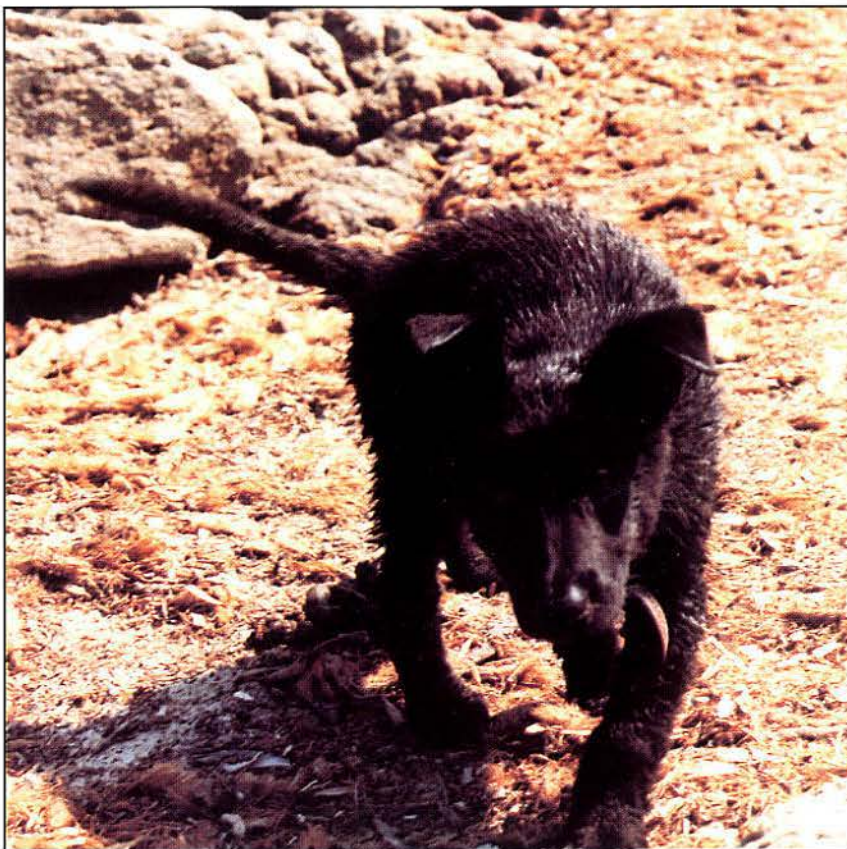
4. Il programma di cui al comma 3 prevede interventi riguardanti:

a) iniziative di informazione da svolgere anche in ambito scolastico al fine di conseguire un corretto rapporto di rispetto della vita animale e la difesa del suo habitat;

b) corsi di aggiornamento o formazione per il personale delle regioni, degli enti locali e delle unità sanitarie locali addetto ai servizi di cui alla presente legge nonché per le guardie zoofile volontarie che collaborano con le unità sanitarie locali e con gli enti locali.

5. Al fine di tutelare il patrimonio zootecnico le regioni indennizzano gli imprenditori agricoli per le perdite di capi di bestiame causate da cani randagi o inselvaticiti, accertate dal servizio veterinario dell'unità sanitaria locale.

6. Per la realizzazione degli interventi di competenza regionale, le regioni possono destinare una



somma non superiore al 25 per cento dei fondi assegnati alla regione dal decreto ministeriale di cui all'8, comma 2. La rimanente somma è assegnata dalla regione agli enti locali a titolo di contributo per la realizzazione degli interventi di loro competenza.

7. Le regioni a statuto speciale e le province autonome di Trento e di Bolzano adeguano la propria legislazione ai principi contenuti nella presente legge e adottano un programma regionale per la prevenzione del randagismo, nel rispetto dei criteri di cui al presente articolo.

Articolo 4

Competenze dei Comuni

1. I comuni, singoli o associati, e

le comunità montane provvedono al risanamento dei canili comunali esistenti e costruiscono rifugi per i cani, nel rispetto dei criteri stabiliti con legge regionale e avvalendosi dei contributi destinati a tale finalità dalla regione.

2. I servizi comunali e i servizi veterinari delle unità sanitarie locali si attengano, nel trattamento degli animali, alle disposizioni di cui all'articolo 2.

Articolo 5

Sanzioni

1. Chiunque abbandona cani, gatti o qualsiasi altro animale custodito nella propria abitazione, è punito con la sanzione amministrativa del pagamento di una somma da lire

trecentomila a lire un milione.

2. Chiunque omette di iscrivere il proprio cane all'anagrafe di cui al comma 1 dell'articolo 3, è punito con la sanzione amministrativa del pagamento di una somma di lire centocinquanta mila.

3. Chiunque, avendo iscritto il cane all'anagrafe di cui al comma 1 dell'articolo 3, omette di sottoporlo al tatuaggio, è punito con la sanzione amministrativa del pagamento di una somma di lire centomila.

4. Chiunque fa commercio di cani o gatti al fine di sperimentazione, in violazione delle leggi vigenti, è punito con la sanzione amministrativa del pagamento di una somma da lire cinquemilioni a lire diecimilioni.

5. L'ammenda comminata per la contravvenzione di cui al primo comma dell'articolo 727 del codice penale è elevata nel minimo a lire cinquecentomila e nel massimo a lire tremilioni.

6. Le entrate derivanti dalle sanzioni amministrative di cui ai commi 1,2,3 e 4 confluiscono nel fondo per l'attuazione della presente legge previsto dall'articolo 8.

Articolo 6

Imposte

1. Tutti i possessori di cani sono tenuti al pagamento di un'imposta comunale annuale di lire venticinquemila.

2. L'acquisto di un cane già assoggettato all'imposta non dà luogo a nuove imposizioni.

3. Sono esenti dall'imposta:

a) i cani esclusivamente adibiti alla guida dei ciechi e alla custodia degli edifici rurali e del gregge;

b) i cani appartenenti ad individui di passaggio nel comune, la cui permanenza non si protragga oltre i

due mesi o che paghino già l'imposta in altri comuni;

c) i cani lattanti per il periodo di tempo strettamente necessario all'allattamento e non mai superiore ai due mesi;

d) i cani adibiti ai servizi dell'Esercito ed a quelli di pubblica sicurezza;

e) i cani ricoverati in strutture gestite da enti o associazioni protettive senza fini di lucro;

f) i cani appartenenti a categorie sociali eventualmente individuate dai comuni.



Articolo 7

Abrogazione di norme

1. Sono abrogati gli articoli 130,131,132,133,134 e 135 del testo unico per la finanza locale approvato con regio decreto 14 settembre 1931, n. 1175, e successive modificazioni, e ogni disposizione incompatibile o in contrasto con la presente legge.

Articolo 8

Istituzione del fondo per l'attuazione della legge

1. A partire dall'esercizio finanziario 1991 è istituito presso il Ministero della Sanità un fondo per l'attuazione della presente legge, la cui dotazione è determi-

nata in lire 1 miliardo per il 1991 e in lire 2 miliardi a decorrere dal 1992.

2. Il Ministero della Sanità, con proprio decreto, ripartisce annualmente tra le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano le disponibilità del fondo di cui al comma 1. I criteri per la ripartizione sono determinati con decreto del Ministro della Sanità adottato di concerto con il Ministro del Tesoro, sentita la Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano, di cui all'articolo 12 della legge 23 agosto 1988, n. 400.

Articolo 9

Copertura finanziaria

1. All'onere derivante dalla presente legge, pari a lire 1 miliardo per il 1991, lire 2 miliardi per il 1992 e lire 2 miliardi per il 1993, si fa fronte mediante utilizzo dello stanziamento iscritto, ai fini del bilancio triennale 1991-1993, al capitolo 6856 dello stato di previsione del Ministero del Tesoro per l'anno 1991 all'uopo utilizzando l'accantonamento "Prevenzione del randagismo".

2. Il Ministro del Tesoro è autorizzato ad apportare, con propri decreti, le occorrenti variazioni di bilancio.

La presente legge munita del sigillo dello Stato, sarà inserita nella Raccolta ufficiale degli atti normativi della Repubblica italiana. È fatto obbligo a chiunque spetti di osservarla e di farla osservare come legge dello Stato.

Data a Roma, addì 14 agosto 1991

VITA DI CORPO: IERI E OGGI

IGNAZIO MICELLONE
UFFICIALE E RICERCATORE

M. Julini (*), M. Marchisio ()**

Nella seconda metà del XIX secolo, quando la morva degli equini rappresentava un problema pressante e concreto per i veterinari civili e militari, il Professor Sebastiano Rivolta (1832 - 1893), docente di anatomia patologica presso la Scuola veterinaria di Pisa, descrisse e rappresentò nel suo trattato "Parassiti vegetali" (1873) miceti microscopici associati a casi di farcino. Nel 1883 riprese queste ricerche con la collaborazione di Ignazio Micellone: studiarono dal punto di vista clinico un centinaio di cavalli colpiti da farcino, sottoposero ad esame microscopico il pus dei cordoni farcinosi, riprodussero in via sperimentale la malattia in equini inoculati con i miceti in esame. Poi, Rivolta e Micellone poterono definitivamente chiarire come "... nel cavallo vi ha un farcino che si può denominare criptococcico", entità nosologica che non aveva nulla a che vedere con la morva, anche se "Con ciò non intendiamo di porre menomamente in dubbio, e tanto meno di negare l'esistenza del farcino moccioso; ma solo di ridurlo alle più ristrette e reali sue proporzioni"; l'esame microscopico del pus rappresentava "... un mezzo diagnostico differenziale più sicuro e più facile che quelli risultanti da minime e talvolta indistinguibili differenze sintomatiche". Veniva così identificato l'agente eziologico del farcino, *Criptococcus farciminosum*, oggi ribattezzato *Histoplasma farciminosum*. Ma chi era questo Ignazio Micellone che Rivolta volle



Ritratto fotografico del tenente colonnello Micellone con l'uniforme oggi custodita al Museo delle uniformi del Regio Esercito.

associare alla scoperta del *Criptococcus*? Una figura a torto trascurata, che merita far conoscere soprattutto fra i veterinari militari.

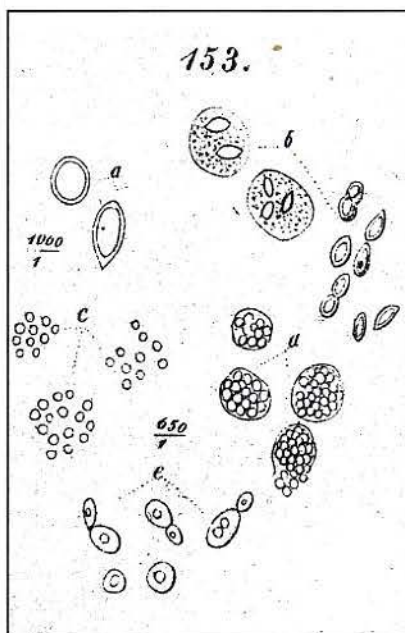
Nato a Bussoleno (TO) il 2.4.1833, Ignazio Micellone nell'ottobre del 1853 entrò alla Scuola veterinaria di Torino, dove con Sebastiano Rivolta, fu allievo di Giovanni Battista Ercolani. Dopo un brillante corso di studi che gli valse il conseguimento di alcune borse di studio, si diplomò il 9 luglio del 1857.

Cominciò ad esercitare la professione a Susa, poi nella condotta veterinaria di Boves (Cuneo). Erano tempi molto duri per l'esercizio della veterinaria in Piemonte: le strutture statali, centrali e periferiche, si dimostravano poco sensibili nei confronti dei veterinari, privi persino del diritto all'esercizio dell'elettorato amministrativo e politico. Era lasciato ampio spazio all'empirismo zoiatrico ed in alcuni piccoli centri, le

amministrazioni comunali affidavano ad empirici persino il controllo delle macellazioni. Era dunque comprensibile che non pochi neodiplomati, dopo essersi scontrati con una realtà tanto deprimente, decidessero di cambiare lavoro.

Ignazio Micellone tenne duro e nel 1859 entrò come veterinario in 2ª (sottotenente) nel 2° reggimento artiglieria da campagna. Noi non seguiremo minutamente la carriera militare di Micellone, che lo vide a Pisa, a Bari ed infine a Torino, certo ricca di soddisfazioni morali e professionali, ma allora molto lenta nella progressione di grado: divenne infatti tenente dopo ben dodici anni di servizio!

Preferiamo sottolineare il suo costante entusiasmo per la ricerca, il suo desiderio di mantenersi aggiornato in campo scientifico. "Ogni volta che il reggimento a cui egli apparteneva aveva sede presso una scuola veterinaria - scrive Vachetta (1902) - noi vediamo il Micellone rifarsi quasi scolare e diventare, per quanto gli permettono i doveri d'ufficio, assiduo frequentatore della scuola stessa". Così a Napoli e soprattutto a Pisa, dove rimase dal 1876 al 1887: questo periodo appare particolarmente felice dal punto di vista scientifico per il Nostro, che poté approfondire studi e ricerche certo appena abbozzati nel periodo universitario (1853 - 1857), nel quale si sapeva ancora poco sulla eziologia "parassitaria" di molte malattie. A Pisa si dedicò con passione alle ricerche nel campo della microscopia e della batteriologia, con Sebastiano Rivolta, l'antico compagno di studi. È una prova del suo amore per lo studio di cose nuove, il fatto che non volle fare sfoggio di una esperienza pratica, sicuramente notevole, e quindi non



Cryptococcus farciminosus rappresentato da S. Rivolta nel suo trattato "Parassiti vegetali" (1873).



Chepy del 1879 con fregio metallico per ufficiali veterinari adottato nel 1872 e rimasto tale fino al 1909. Il chepy presenta i gradi di tenente colonnello. Si noti anche la stupenda valigetta destinata al trasporto del chepy e degli accessori per l'alta uniforme (Museo delle uniformi del Regio Esercito).

CRONOLOGIA DELLA VITA DI IGNAZIO MICELLONE

- 1833 - nasce il 2 aprile, a Bussoleno (Susa);
- 1853 - si iscrive alla Scuola veterinaria di Torino;
- 1857 - il 9 luglio si diploma e comincia l'esercizio professionale, prima a Susa poi a Boves (CN);
- 1859 - veterinario in 2^a (sottotenente) presso il 2^o rgt. Artiglieria da campagna;
- 1860 - veterinario in 2^a (sottotenente) presso il 6^o rgt. Artiglieria;
- 1861 - veterinario in 2^o di prima classe;
- 1866 - partecipa alla terza guerra di indipendenza;
- 1871 - veterinario in 1^a (tenente) presso l'11^o rgt. Artiglieria;
- 1874 - tenente veterinario presso il 7^o rgt. Cavalleria (Milano);
- 1876 - capitano veterinario presso il 1^o rgt. Genio;
- 1876 - capitano, dal 28 dicembre, presso il 7^o rgt. Artiglieria di Pisa; per un decennio collabora con Sebastiano Rivolta;
- 1877 - maggiore presso l'11^o Corpo d'Armata a Bari;
- 1888 - insignito della Croce di Cavaliere della Corona d'Italia;
- 1889 - maggiore presso il 1^o Corpo d'Armata a Torino;
- 1893 - lascia il servizio attivo;
- 1896 - tenente colonnello in servizio ausiliario;
- 1897 - posto a riposo per anzianità di servizio;
- 1898 - insignito della Croce dell'Ordine dei SS. Maurizio e Lazzaro;
- 1902 - muore il 21 gennaio.

si impegnò nella chirurgia, pur fornendo materiale di studio per la clinica chirurgica. Il suo interesse prevalente fu per il laboratorio di anatomia patologica di Rivolta. E non si sottovalutò lo spirito di servizio ed il disinteressato amore per la ricerca. A proposito delle scoperte fatte in collaborazione con Rivolta, Peroncito (1902) gli indirizzava queste parole: "Appassionato alla scienza studiavi col più grande amore, e quando da solo non potevi disvelare i segreti della natura, ti univi ad altri nel solo scopo di scoprire il vero". E come se non bastasse sempre nel periodo pisano, Micellone si impose, in età non giovanissima, lo studio della lingua tedesca per poter consultare testi e pubblicazioni scientifiche di quella importante scuola. Da pezzi patologici forniti dal Nostro, scaturì la prima scoperta, quella già ricordata dell'agente eziologico del farcino criptococcico. Rivolta e Micellone studiarono poi il c.d. fungo da castrazione degli equini e descrissero quello che loro chiamarono *Discomyces equi* e Johnne ribattezzò *Botriomyces*: oggi la botriomicosi è ricondotta a

Staphylococcus aureus, ma questo non limita il rigore della ricerca allora condotta, confermata da prestigiosi ricercatori italiani e stranieri.

Il Nostro compì poi studi sul valore diagnostico della malleina e scorrendo l'elenco dei suoi 19 lavori (Vachetta, 1902) si ha l'idea di un fattivo impegno scientifico, tale da fornire importanti risvolti applicativi.

Nel 1893 Micellone lasciò il servizio attivo, i concittadini lo vollero consigliere comunale e nel 1899 lo elessero consigliere per Susa al Consiglio provinciale di Torino. Continuava a frequentare i docenti della Scuola veterinaria di Torino e venne nominato vice presidente della R. Società Nazionale Veterinaria. Sempre aggiornato, quando morì, il 21 gennaio del 1902, stava scrivendo una memoria sull'afra epizootica, tema allora di grande attualità, fiorivano infatti le polemiche intorno al nuovissimo metodo di cura, proposto dal medico on. Guido Baccelli, presto rivelatosi inefficace.

Il 23 gennaio si svolsero i solenni funerali con onori civili e militari: imponente la partecipazione dei col-



Uniforme da maggiore veterinario in gran montura del periodo 1880: tale uniforme è caratterizzata dal chepy con i gradi da tenente colonnello. Verosimilmente Micellone, che si trovava in ausiliaria, non ritenne opportuno sostituire i gradi sulla manica quando ricevette la nomina. L'abbottonatura della giacca, le spalline metalliche, le doppie bande ai pantaloni e la sciabola sono dello stesso modello della cavalleria, a ricordo dell'antica affinità di questa arma col servizio veterinario (Museo delle uniformi del Regio Esercito di Castellar).

leggi, civili e militari: gli diedero l'estremo saluto il maggiore Bertuetti del Corpo Veterinario Militare, il professore Brusasco, direttore della Scuola Veterinaria torinese ed il dottor Volante in rappresentanza della R. Società Nazionale Veterina-

Pubblicazioni di Ignazio Micellone (da Vachetta, 1902)

1. Spigolature nel campo clinico, raccolta di 7 interessanti casi di clinica chirurgica, pubblicata a Torino (Medico Veter.) nel 1875.

2. Resoconto clinico di affezioni tifiche e di due casi di antrace nei cavalli del 7° Regt. Artiglieria. Pisa (Giorn. d'anat. fisiol. e patol. degli animali) 1878.

3. Sopra l'afta equina del Regis nei cavalli del Deposito allevamento puledri di Grosseto: sperimento d'innesto e considerazioni per il prof. S. Rivolta ed il Capitano veterinario I. Micellone. Pisa (Ibid.) 1880.

4. Spigolature nel campo della Clinica veterinaria. Sono due casi di gravi lesioni vascolari nel cavallo. Pisa (Ibid.) 1881.

5. Del farcino criptococcico, prof. S. Rivolta ed I. Micellone. Pisa (Ibid.) 1882.

6. Circa il fuoco a punte sottili e penetranti: spigolature cliniche. (Ibid.) 1882.

7. Circa la convenienza d'una più esatta distinzione d'alcuni morbi. Pisa (Ibid.) 1885.

8. Di una nuova specie di micro-micete e di sarcoma nel cavallo per Micellone Ignazio e Rivolta Sebastiano. Pisa (Ibid.) 1887.

9. Commenti ad alcune Note del

Regis sulle iniezioni intravenose di chinina: sul barbone, sull'afta, sulla difterite nel cavallo. Pisa (Ibid.) 1887.

10. Casi di febbre carbonchiosa: storia clinica e considerazioni. Udine (Giorn. di Vet.milit.) 1888.

11. Studi sperimentali di Cadeac e Malet sopra la trasmissione del moccio, ecc. (Ibid.) 1888.

12. Sulla profilassi del moccio. Roma (Ibid.) 1891.

13. Per la veterinaria legale. Roma (Ibid.) 1892.

14. Sperimenti d'inoculazione di malleina a scopo diagnostico del moccio. Roma (Ibid.) 1892.

15. Origine del cavallo e sua importanza per l'uomo: traduz. dal tedesco di F.C. Meyer. Pisa (Giorn. d'Ippol.) 1890.

16. Ferrature americane, da un artic. tedesco. Pisa (Ibid.) 1891.

17. Status equestre del generale Alfonso Ferrero della Marmora. Pisa (Ibid.) 1892.

18. Sulla formazione del piede di becco. Pisa (Ibid.) 1891.

19. La tosatura del cavallo nei suoi rapporti coll'igiene e la patogenia. Roma (Giorn. Veter. mil.) 1892.

Oltre a varie traduzioni e sunti dal francese e dal tedesco.

ria. Si spesero molte parole, oggi qualche frase potrebbe apparire troppo retorica e roboante ma il giudizio positivo sulla figura di Ignazio Micellone, ricercatore ed ufficiale veterinario, resta intatto.

Con la morte di tutti gli eredi

diretti, gli effetti personali militari ed i documenti del Nostro, pervennero al Museo delle uniformi del Regio Esercito di Castellar (Saluzzo). Oltre all'uniforme, sono custoditi il diploma di laurea, i documenti della carriera militare, un meda-



Sopra: Medagliere: dall'alto verso il basso e da sinistra a destra si apprezzano: la medaglia per le guerre combattute per l'indipendenza ed unità d'Italia con la fascetta della campagna del 1866, quella di cavaliere della corona d'Italia, la medaglia commemorativa delle guerre d'indipendenza, la medaglia del Consiglio provinciale di Torino e quella di Cavaliere dell'Ordine dei SS. Maurizio e Lazzaro (Museo delle uniformi del Regio Esercito).
A destra: Controspallina da gran montura per i veterinari assimilati agli ufficiali inferiori, periodo 1871 (Museo delle uniformi del Regio Esercito).

gliere con foto, un ritratto a pastello a firma Augusta Rivolta ed infine alcune lettere tra le quali una appare di particolare interesse veterinario poiché segnala una grave epizootia di carbonchio ematico in quel di Bari. Il conservatore del Museo, signor Anselmo Aliberti, ci ha messo a disposizione tutto questo materiale con una fattiva e cortese collaborazione per la quale merita tutta la nostra gratitudine, anche per le preziose informazioni uniformologiche che ci ha fornito.

BIBLIOGRAFIA

DEL GIUDICE V. E SILVESTRI A. - Il Corpo Veterinario Militare. Storia e Uniformi. Edagricole, Bologna, 1984.

PERRONCITO E. (1902) - Per il Dott. Micellone cav. Ignazio. Giorn. R. Società Veterinaria, 51, 151.

VACHETTA A. (1902) - Necrologio di Ignazio Micellone. Il Nuovo Ercolani, anno 7, pp. 54-56 e 66-71.

Fotografie eseguite dall'Asp. Uff. Vet. Marcello Curcio.



Il Dott. Milo Julini, nato a Torino nel 1951, nel 1974 si è laureato con lode a Torino, dove ha operato a

far tempo dallo stesso anno e dove è attualmente professore associato di "Lavori Pratici nei Macelli".

Negli anni 1977 e 1978 ha prestato servizio come Sottotenente Veterinario di complemento presso la Scuola del Corpo Veterinario Militare di Pinerolo.

Specialista in Ispezione degli alimenti di origine animale si occupa da tempo di storia della veterinaria, con particolare riguardo alla Facoltà di Torino, e della alimentazione umana nei tempi passati con la relativa normativa, argomenti da lui considerati in numerose pubblicazioni.



L'Aspirante Ufficiale Mario Marchisio appartiene al XIX corso dell'Accademia di Sanità Militare Interforze e frequenta la Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino.

Appassionato di "Militaria", ha contribuito alla realizzazione della Mostra Uniformologica in occasione del 130° annale di fondazione del Corpo Veterinario Militare.

Ha collaborato alla stesura di alcuni articoli, a sfondo storico, sempre inerenti al Corpo.



Dal 15 al 20 settembre 1991 si è svolta a Sonthofen, in Germania, la 39^a Conferenza Internazionale di Medicina Veterinaria Militare. La delegazione Italiana, rappresentata dal Magg. Gen. Domenico Nesci, dal Col. Arnaldo Triani e dal Dott. Vito Vittucci ha presentato una relazione sul servizio veterinario nell'ambito della Scuola Militare di Equitazione.

Del contingente italiano "Pellicano", chiamato a svolgere l'operazione umanitaria a favore dell'Albania, hanno costantemente fatto parte due Ufficiali veterinari dislocati a Durazzo ed a Valona. Gli ufficiali che si sono alternati nel servizio sono:

Cap. Franco Salerno, effettivo

In alto: I partecipanti alla 39^a Conferenza Internazionale di Medicina Veterinaria Militare.

A fianco e nella pagina a destra: "Operazione Pellicano", ispezione di derrate di origine animale da parte degli ufficiali veterinari.



alla Brigata "Acqui";

Ten. Antonio Lombardo, effettivo alla RMSI-Comando Servizio Veterinario;

Ten. Giuseppe Zammuto, effettivo alla RMSI - Comando Servizio Veterinario;

Ten. Paolo Cerreta, effettivo alla Brigata "Pinerolo";

Cap. Marcello Vigliotta, effettivo alla RM Sardegna-Comando Servizio Veterinario;

Ten. Dante Delle Rose, effettivo alla Brigata "Cremona".

Attualmente si trovano in Albania il Ten. Domenico Multari e il Ten. Luigi Frare, rispettivamente in servizio al Comando Regione Militare NE ed alla Accademia Militare di Modena. La presenza degli ufficiali veterinari è di particolare importanza non solo per il controllo degli alimenti di origine animale che giungono dall'Italia ma soprattutto per l'ispezione ed il controllo di quelli acquistati in loco, in consi-



derazione anche delle precarie condizioni di quel Paese.

Indispensabile è la consulenza degli Ufficiali veterinari anche per la sistemazione delle infrastrutture destinate alla conservazione, preparazione e distribuzione degli alimenti di origine animale.

La professionalità e la competenza dimostrata dagli Ufficiali veterinari è stata senza dubbio elemento indispensabile a garantire la salubrità degli alimenti e la prevenzione delle tossinfezioni alimentari.

Il giorno 30 novembre 1991 si è svolta a Pinerolo, presso la Scuola del Corpo Veterinario Militare, la cerimonia del Giuramento del 24° Corso NEASMI e del 101° Corso AUCV.

Sotto: Giuramento del 24° Corso NEASMI e del 101° Corso AUCV.

Il giorno 12 ottobre 1991 si sono svolti a Pinerolo gli esami finali del 32° Corso Applicativo per Tenenti veterinari di nuova nomina. Vengono di seguito riportate le Sedi di assegnazione degli Ufficiali frequentatori:

Ten. vet. Salvatore Anastasi, Centro Militare Allevamento Rifornimento Quadrupedi - Grosseto;

Ten. vet. Flavio Bossi, Scuola Militare di Equitazione - Montelibretti;

Ten. vet. Geremia Dosa, Comando Generale Guardia di Finanza - Roma;

Ten. vet. Luigi Frare, Accademia Militare - Modena;

Ten. vet. Stefano Gatti, Centro Militare Allevamento Rifornimento Quadrupedi - Grosseto;

Ten. vet. Roberto Grasso,

Comando Brigata "Centauro" - Novara;

Ten. vet. Umberto Lusena, Centro Studi Corpo Veterinario Militare - Roma;

Ten. vet. Stefano Nardi, Scuola di Applicazione - Torino;

Ten. vet. Riccardo Tontaro, RMNE - Comando Servizio Veterinario - Padova;

Ten. vet. Paolo Viola, RMNO - Comando Servizio Veterinario - Torino;

Ten. vet. Luca Virgilio, Reggimento Carabinieri a Cavallo - Roma.

Il 21 gennaio 1992 si è svolta, presso l'Istituto Superiore di Sanità, presente il Ministro Onorevole De Lorenzo, la Conferenza Nazionale su "La professione veterinaria degli anni '90 al servizio dell'uomo,





dell'animale, dell'ambiente" con ampio concorso di pubblico.

Hanno partecipato ai lavori i rappresentanti delle Università, degli Istituti Zooprofilattici, degli Ordini Professionali, del Corpo Veterinario dell'Esercito, dei Sindacati di categoria e delle Associazioni degli Allevatori e dei Consumatori. Sono stati trattati i seguenti temi: dal Prof. Orazio Catarsini "Ricerca scientifica, didattica e professione veterinaria"; dal Prof. Agostino Macrì "Istituto Superiore di Sanità e professione veterinaria"; dal Prof. Gianfranco Panina "Gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali e professione veterinaria"; dal Prof. Paolo Del Monte "Agroindustria, la qualità dei prodotti e professione veterinaria"; dal Prof. Franco Valfre "Biotecnologie, produzione zootecnica e professione veterinaria"; dal Prof. Silvano Maletto "Il degrado ambientale e professione veterinaria"; dal Magg.Gen. Domenico Nesci "Calamità naturali e profes-

sione veterinaria".

Il Capo del Corpo Veterinario dell'Esercito, alla luce delle esperienze maturate dagli ufficiali veterinari in occasione dei concorsi forniti nelle calamità occorse nell'ultimo trentennio, trattando il tema assegnatogli, ha delineato una ipotesi di organizzazione dei soccorsi ed ha sottolineato la primaria importanza di una adeguata programmazione.

Dai relatori è stato dato risalto all'attuale figura del veterinario: un medico degli animali al servizio dell'uomo.

È questo oggi il significato della professione veterinaria, spesso sconosciuta al grande pubblico ma anche sottovalutata dagli addetti ai lavori. Il veterinario è il principale garante della qualità degli alimenti più pregiati destinati all'uomo lungo tutta la catena alimentare attraverso un rigoroso controllo dalla produzione al consumo; è poi parte essenziale della continua lotta dell'uomo

Sopra: Momenti della Conferenza su: "La professione veterinaria degli anni '90 al servizio dell'uomo, dell'animale, dell'ambiente."

contro l'inquinamento del suo habitat naturale; e ancora è l'unico insostituibile strumento per qualsiasi impresa zootecnica moderna che voglia impostare una sua gestione aziendale economicamente valida.

Secondo il Dott. Rogheto, Presidente della Federazione Nazionale degli Ordini Veterinari, a pochi giorni dalla Conferenza Nazionale che ha visto riuniti a Roma i rappresentanti di 16 mila veterinari italiani, sono questi i mille volti della professione veterinaria che ha rilevato la presenza della diossina a Seveso e scopre ancora, attraverso lo studio condotto sugli animali, il pericolo di sostanze tossiche nell'acqua; sempre la veterinaria ha assunto il ruolo guida nel controllo sanitario degli alimenti destinati all'uomo in occasione dell'inquinamento nucleare di Cernobyl e vigila costantemente sui prodotti animali



Sopra: Alcuni dei relatori alla Conferenza su: "La professione veterinaria degli anni '90 al servizio dell'uomo, dell'animale, dell'ambiente.

che oggi, più che mai, sono preda di sofisticazioni.

La medicina veterinaria ha assunto a questo proposito un preciso e determinante ruolo finalizzato alla salute dell'uomo: lo difende infatti dalle zoonosi a cominciare da quelle tradizionali, come tubercolosi, brucellosi e rabbia, fino alle forme virali e parassitarie emergenti.

Per far tutto questo - ha concluso Rogheto - il veterinario guarda costantemente alla sua formazione, dall'Università alla specializzazione, curando l'aggiornamento anche in vista dell'Europa del '93; per questa data il veterinario italiano dovrà adeguare la sua preparazione a quella dei colleghi CEE e per questo scopo è stata istituita, per iniziativa del Ministro Ruberti, una apposita Commissione che dovrà adeguare alle nuove esigenze le Facoltà di Medicina Veterinaria.

CONGEDAMENTI

1992 Il Cap. co. vet. Stefano Crescenzi, già Ufficiale addetto alla Sezione Tecnica del Comando del Corpo Veterinario Esercito, in data 18 febbraio 1992 è transitato, quale vincitore di concorso, nel Servizio Sanitario Nazionale.

TRASFERIMENTI

Il Cap. Alessandro Sericola dalla Brigata Meccanizzata "Goito" al Comando del 3° Corpo D'Armata in data 01.08.1991.

Il Cap. Marco Ongaro dalla Brigata Meccanizzata "Brescia" al Comando Servizi Veterinari della RMTE in data 01.08.1991.

Il Cap. Andrea Vidoni dal Comando Servizi Veterinari della RMNE al Comando Brigata Meccanizzata "Gorizia" in data 26.08.1991.

Il Ten. Col. Giuseppe Vilardo dal Comando 3° Corpo d'Armata al Comando Servizi Veterinari della RMSA in data 21.10.1991.

Il Ten. Col. Luigi Asprea dal Comando Servizi Veterinari RMSA al Comando Generale Arma Carabinieri in data 26.11.1991.

Il Ten. Col. Stefano Barlozzari dal Comando Generale Arma Carabinieri al Comando Corpo Veterinario dell'Esercito in data 03.12.1991.

PROMOZIONI

In data 31.12.1991 sono stati promossi al grado superiore i seguenti Ufficiali:

Ten. Col. vet. Arnaldo Triani;
Magg. vet. Giuseppe Tortora;
Magg. vet. Guglielmo Inì;
Cap. vet. Carlo Testa;
Ten. vet. Giuseppe Zammuto;
Ten. vet. Ermanno Rossi;
Ten. vet. Fabrizio Grifoni.



1861, Ufficiale del Corpo Veterinario.

